



**VANESSA CONDESSO  
DELMORAL**

**OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS DE DESINFECÇÃO DA  
MISTOLIN COMPANY**



**VANESSA CONDESSO  
DELMORAL**

**OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS DE DESINFECÇÃO DA  
MISTOLIN COMPANY**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, Ramo Industrial e Ambiental, realizada sob a orientação científica da Professora Ana Maria Pissarra Coelho Gil, Professora Associada com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e coorientação do Engenheiro Marco Jorge Pedrosa Sebastião, responsável pela Área de Conceção e Desenvolvimento do Produto da Mistolin Company, situada em Vagos, no distrito de Aveiro.

## **o júri**

presidente

**Prof. Doutora Luísa Alexandra Seuanes Serafim Martins Leal**

professora auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**Doutor Jorge Manuel Alexandre Saraiva**

investigador auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**Prof. Doutora Ana Maria Pissarra Coelho Gil**

professora associada com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

## **agradecimentos**

Em primeiro lugar agradeço aos meus orientadores, o Engenheiro Marco Sebastião e à Professora Ana Gil, pelo constante apoio e disponibilidade, por confiarem nas minhas capacidades, pelos conselhos e opiniões pertinentes ao longo de toda a tese e estágio.

Agradeço ao Departamento de Química, que me permitiu estudar e crescer num ambiente de proliferação científica e que me permitiu obter uma formação base sólida que me deu asas para embarcar no desafio que é um estágio.

Agradeço à Mistolin, que me permitiu realizar o estágio nas suas instalações, conferindo-me liberdade para cumprir os objetivos propostos e que, na falta do equipamento necessário na empresa, me proporcionou os meios para que pudesse realizar os testes que necessitava noutros locais. Agradeço também a todas as pessoas da empresa que, de uma forma ou de outra, me integraram e ajudaram sempre que foi necessário.

Aos meus amigos da UA que marcaram o meu percurso por esta academia com o seu companheirismo constante.

À minha irmã que me ajuda e aconselha desde sempre, e por fim, aos meus pais que sempre me apoiaram e me deram a oportunidade de concluir os meus estudos.

## Palavras-chave

Mistolin, desinfecção, *cleaning-in-place* (CIP)

## Resumo

No que diz respeito à desinfecção de equipamentos industriais, embora seja um assunto já abordado por alguns autores, na prática não existem muito dados sobre situações reais (o melhor processo, o melhor desinfetante, o tempo de contacto ideal, as condições ótimas, etc.) em particular para indústrias de fabrico de produtos de limpeza, como a Mistolin Company. Por este motivo esta dissertação teve como objetivo possibilitar uma melhor adequação dos métodos de desinfecção, de modo a permitir uma redução da probabilidade de contaminação do produto final. Para tal foram identificadas as informações atualmente disponíveis no que se refere à higienização de equipamentos industriais, tais como procedimentos, contaminantes e avaliação de grau de contaminação e legislação aplicável.

Após acompanhamento e monitorização do procedimento de produção da fábrica em estudo e dos seus ciclos de higienização, foram realizadas análises microbiológicas. Por fim foi realizado um diagnóstico e foram propostas soluções. Para a higienização de equipamentos como depósitos de armazenamento e algumas linhas de enchimento foram implementadas alterações no procedimento de desinfecção. Sugeriu-se também o desenvolvimento de estudos adicionais para a adequação de parâmetros como a concentração da solução desinfetante.

**Keywords**

Mistolin, disinfection, *cleaning-in-place* (CIP)

**Abstract**

Regarding the hygienization of industrial equipments, although it is a subject already addressed by some authors, there is not much data on actual situations, in particular for cleaning products industries, such as the Mistolin Company. For this reason, this dissertation aimed to enable a better adequacy of disinfection methods, in order to reduce the likelihood of contamination of the final product. To this end, the information currently available regarding the hygiene of industrial equipment, such as procedures, contaminants and evaluation of the degree of contamination and applicable legislation was reviewed.

Microbiological analyses were carried out after monitoring the production procedure of the factory under study and its hygiene cycles. Finally, a diagnosis was made and solutions were proposed. For the sanitization of equipment such as storage deposits and some filling lines, alterations in the disinfection procedure were implemented. It was also suggested the realization of additional studies for the adequacy of parameters such as the concentration of the disinfectant solution.

## Índice

<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>II</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS.....</b>	<b>III</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>IV</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1. CONTEXTUALIZAÇÃO .....	1
1.2. A MISTOLIN COMPANY .....	3
1.2.1. Localização e apresentação.....	3
1.2.2. Descrição do processo produtivo .....	4
1.2.2.1. Análises laboratoriais para controlo de qualidade .....	5
1.2.2.2. Receção de Matérias-primas Químicas.....	9
1.2.2.3. Formulação de produtos.....	10
1.2.2.4. Enchimento da linha doméstica.....	13
1.2.2.5. Enchimento da linha profissional.....	14
1.2.2.6. Atividades auxiliares ao processo produtivo .....	14
<b>2. ESTADO ATUAL DA HIGIENIZAÇÃO EM INDÚSTRIAS APLICÁVEL À MISTOLIN COMPANY .....</b>	<b>17</b>
2.1. PRÁTICAS DE HIGIENIZAÇÃO GERALMENTE APLICADAS EM INDÚSTRIAS.....	18
2.2. CONTAMINANTES ENCONTRADOS EM SUPERFÍCIES DE EQUIPAMENTO INDUSTRIAL .....	20
2.3. AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS PROCESSOS DE HIGIENIZAÇÃO.....	22
2.1. LEGISLAÇÃO RELEVANTE.....	25
<b>3. CARACTERIZAÇÃO DOS PROCESSOS DE HIGIENIZAÇÃO APLICADOS NA MISTOLIN COMPANY .....</b>	<b>26</b>
3.1. IDENTIFICAÇÃO DE MEDIDAS DE HIGIENIZAÇÃO EM PRÁTICA NA MISTOLIN COMPANY .....	26
3.1.1. Procedimento de desinfeção dos reatores de formulação .....	27
3.1.2. Procedimento de desinfeção das linhas de enchimento .....	30
3.1.3. Alterações implementadas durante o estágio no procedimento de desinfeção dos depósitos de armazenamento .....	33
3.2. IDENTIFICAÇÃO DAS MEDIDAS DE AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS VÁRIOS EQUIPAMENTOS E ESTRUTURAS INTERVENIENTES NO PROCESSO DE PRODUÇÃO .....	33
<b>4. AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA HIGIENIZAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS DA MISTOLIN COMPANY .....</b>	<b>36</b>
4.1. IDENTIFICAÇÃO DE PONTOS CRÍTICOS DE CONTAMINAÇÃO.....	37
4.1.1. Procedimento de amostragem.....	37
4.1.2. Procedimento de cultura e contagem de microrganismos .....	40
4.2. RESULTADOS DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	40
<b>5. CONCLUSÃO E SUGESTÕES FUTURAS.....</b>	<b>46</b>
<b>6. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>49</b>

## Índice de Figuras

Figura 1 - Fachada atual da Mistolin Company (Zona Industrial de Vagos). .....	3
Figura 2 – Fluxograma do processo produtivo da Mistolin Company.....	5
Figura 3 - Ilustração do funcionamento do método de amostragem ATR da tecnologia de espectroscopia de infravermelho FTIR (adaptado de Hindi, A. et al. [4]). n: índice de refração. 7	
Figura 4 - Espectro de FTIR-ATR obtido com o equipamento da Mistolin Company para análise da MPQ lauriléter sulfato de sódio (SLES). .....	8
Figura 5 - Topo de um reator de formulação da Mistolin Company. ....	11
Figura 6 - Manifold 1, equipamento que faz a ligação dos reatores de formulação aos depósitos de armazenamento com mangueiras. Em cima: válvulas da tubagem dos depósitos; em baixo: válvulas da tubagem dos reatores.....	12
Figura 7 - Linha 5, linha de enchimento usada principalmente para o enchimento de lava-loiça. ....	13
Figura 8 – Designs do sistema de higienização CIP (a) Single use (b) Reuse.....	19
Figura 9 - Estrutura de gluteraldeído e dos compostos quaternários de amónio cloreto de didecildimetilamónio e cloreto de benzalcónio. ....	27
Figura 10 - Pinha de um reator de formulação da Mistolin Company. ....	28
Figura 11 – Esquema do procedimento de desinfecção dos reatores de formulação. ....	29
Figura 12 - Esquema do procedimento de desinfecção das linhas de enchimento. ....	31
Figura 14 - Manifold 2, equipamento que faz a ligação dos depósitos de armazenamento às linhas de enchimento com mangueiras. Em cima: válvulas da tubagem das linhas; em baixo: válvulas da tubagem dos depósitos. ....	32
Figura 13 - Bicos de enchimento de uma linha de enchimento da Mistolin Company. ....	32
Figura 15- Preventol®Dipslides (Lanxess). ....	34
Figura 16 - Comparação resultados para colónias de fungos filamentosos.....	35
Figura 17 - Comparação de resultados para colónias de bactérias/leveduras. ....	35
Figura 18 – Eficiência do processo de desinfecção e unidades formadoras de colónias (por zaragatoa) antes e após o processo de desinfecção do reator de formulação 206. ....	42
Figura 19 - Eficiência e unidades formadoras de colónias (por zaragatoa) antes e após o processo de desinfecção da linha de enchimento 5. ....	45



## **Índice de Tabelas**

Tabela 1 - Calendarização das atividades desenvolvidas no estágio. ....	2
Tabela 2- Comparação entre as propriedades dos principais desinfetantes químicos para higienização de equipamentos industriais. ....	22
Tabela 3 - Requisitos legais aplicados à fábrica. ....	25
Tabela 4 – Locais de amostragem dos pontos críticos de contaminação identificados nos equipamentos envolvidos no processo produtivo da Mistolin Company.....	38
Tabela 5 – Resultados obtidos para as superfícies do reator de formulação 206. ....	41
Tabela 6 – Resultados obtidos para as superfícies do depósito de armazenamento 301. ....	44
Tabela 7 - Resultados obtidos para as superfícies da linha de enchimento 5. ....	45

## Abreviaturas

Na maioria dos casos, as abreviaturas foram feitas a partir dos termos em inglês.

ATR – *Attenuated Total Reflectance* (refletância total atenuada)

CQA – Compostos quaternários de amónio

CIP – *Cleaning-in-place* (limpeza *in situ*)

ETARI – Estação de Tratamento de Águas Residuais Industriais

FTIR – *Fourier Transform Infrared* (espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier)

HACCP – *Hazard Analysis and Critical Control Points* (Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos)

IBC – *Intermediate bulk container*

I&d – Investigação e desenvolvimento

ISO – *International Standardization Organization* (Organização Internacional de Normalização)

LAS – *Linear alkylbenzene sulfonate* (sulfonato alquilbenzeno linear)

MPQ – Matéria prima química

S.A. – Sociedade anónima

SLES – *Sodium lauryl ether sulfate* (lauriléter sulfato de sódio)

UFC – Unidades formadoras de colónias

## **1. Introdução**

O presente trabalho constitui a dissertação de um estágio curricular realizado durante o ano letivo 2018/2019 que decorreu na unidade fabril da Mistolin Company, no âmbito das unidades curriculares de Seminário em Biotecnologia e Dissertação/Projeto/Estágio do Mestrado em Biotecnologia da Universidade de Aveiro.

### **1.1. Contextualização**

A determinação da eficiência de um processo de higienização em equipamentos que contactam diretamente com o produto é de extrema importância, permitindo assim manter a integridade do produto durante o seu processamento. No que diz respeito à desinfecção de equipamentos industriais, embora seja um assunto já abordado por alguns autores, na prática não existem muitos dados sobre situações reais (o melhor processo, o melhor desinfetante, o tempo de contacto ideal, as condições ótimas, etc.) em particular para indústrias de fabrico de produtos de limpeza, como a Mistolin Company. Assim sendo, o objetivo final desta dissertação em ambiente empresarial é a avaliação e proposta de aperfeiçoamento da qualidade das higienizações do sistema produtivo da empresa Mistolin Company, entre fabricos e pós-armazenamento dos produtos.

No âmbito do estágio foi primeiramente efetuada a identificação das etapas e equipamentos do sistema produtivo da Mistolin Company, seguida de caracterização das práticas de higienização do mesmo. Foi também feita uma revisão bibliográfica para identificação das técnicas de higienização geralmente aplicadas em indústrias, da flora microbiana e outros contaminantes que poderão potencialmente surgir e da legislação relevante para o tipo de indústria em que a Mistolin Company se insere.

No segundo semestre do ano letivo supracitado efetuou-se a identificação dos pontos nos equipamentos da linha de produção onde poderão ocorrer contaminações (pontos críticos de contaminação) e a avaliação da eficácia dos métodos de higienização atualmente aplicados na Mistolin Company, recorrendo a técnicas de avaliação microbiológica.

Na última etapa deste estágio foi feita a proposta de otimização dos planos de higienização, estando esta e as restantes atividades desenvolvidas esquematizadas na **Tabela 1**.

**Tabela 1** - Calendarização das atividades desenvolvidas no estágio.

Atividades	2018			2019				
	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai
Identificação de legislação relevante	X	X						
Identificação do sistema produtivo da Mistolin Company	X	X						
Identificação da metodologia atual de higienização dos equipamentos e estruturas do sistema produtivo	X	X						
Identificação de contaminantes que poderão surgir na fábrica após revisão bibliográfica	X	X	X	X				
Identificação global dos pontos críticos de contaminação de acordo com a informação bibliográfica					X	X		
Avaliação da eficácia da metodologia atual de higienização por análise microbiológica dos pontos críticos contaminação no laboratório de análises associado à empresa							X	X
Proposta de otimização dos planos de desinfecção dos vários equipamentos e estruturas							X	X

## 1.2. A Mistolin Company

### 1.2.1. Localização e apresentação

A Mistolin Company (**Figura 1**) é uma empresa portuguesa, sediada na zona industrial de Vagos, que produz e comercializa produtos de limpeza de utilização doméstica e profissional. A empresa foi fundada em 1992, no concelho de Vagos, onde opera numa área de aproximadamente 10 800 m<sup>2</sup>, empregando cerca de 90 colaboradores.



**Figura 1** - Fachada atual da Mistolin Company (Zona Industrial de Vagos).

A Mistolin Company é líder de mercado em desengordurantes, atuando também em diferentes áreas de negócio e, para tal, produz e comercializa todo o tipo de detergentes. A produção média anual é de cerca de 12.000.000 kg de detergentes, fornecendo grandes centros de distribuição organizada e exportando para diversos países como: Angola, Argélia, Cabo Verde, Canadá, China, Espanha, França, Luxemburgo, Moçambique, Marrocos, República Democrática do Congo e São Tomé e Príncipe.

Inicialmente, a empresa inseriu-se no mercado com produtos de higiene e limpeza para uso doméstico, tendo-se alargado posteriormente a sua gama de produtos. Em 2004 a empresa dedicou-se à produção de detergentes qualificados para uso na indústria, surgindo a Mistolin Profissional para novos mercados alvo, particularmente no designado canal HORECA

(acrónimo para Hotéis, Restaurantes e Cafés), lavandarias e indústrias. Em 2008 reforçou os seus serviços e garantias através da Mistolin Serviços, para prestação de assistência técnica e implementação do sistema HACCP (do inglês *Hazard Analysis and Critical Control Points* ou Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos) em outras empresas, apostou-se também na comunicação e marketing e em investigação e desenvolvimento (i&d).

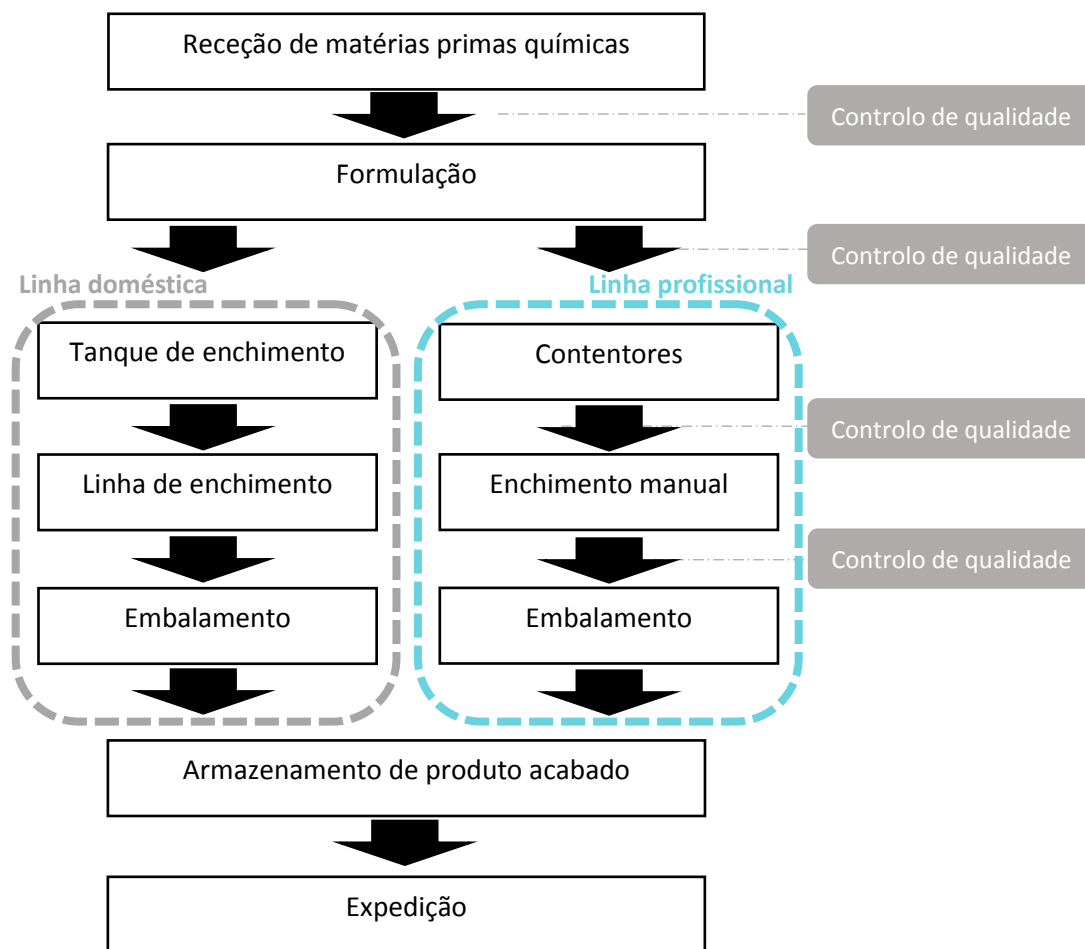
No ano 2012 a Mistolin passou a S.A. (Sociedade Anónima), sendo atualmente uma empresa certificada em Sistema de Gestão de Qualidade pela NP EN ISO 9001:2008, em Ambiente pela NP EN ISO 14001:2004, em Higiene, segurança e saúde no trabalho pela OSHAS 180001:2007 e Responsabilidade Social pela SA 80000:2008 [1].

### **1.2.2. Descrição do processo produtivo**

A Mistolin Company possui cerca de 360 formulações de produtos de limpeza para as quais são utilizadas cerca de 770 matérias primas químicas (MPQs) e água captada e desmineralizada nas instalações da organização. Esta empresa produz uma vasta gama de produtos, desde produtos de higiene pessoal de uso doméstico até potentes detergentes alcalinos clorados com ação desinfetante, para uso profissional.

Na **Figura 2** estão representadas sucintamente todas as etapas do processo produtivo da Mistolin Company, desde a entrada das MPQs até à expedição do produto final, descritas abaixo.

É importante realçar que o processo produtivo da organização é diversificado e variável de dia para dia em termos de produtos finais, pelo que os processos de análises laboratoriais para controlo de qualidade, enchimento e o tipo de produção variam consoante a procura e as encomendas dos clientes.



**Figura 2** – Fluxograma do processo produtivo da Mistolin Company.

De uma forma geral, a unidade industrial divide-se em seis setores: formulação, enchimento, armazém de produto acabado, armazém de aprovisionamento, área de receção e inspeção e unidade de produção de vasilhames. O setor da formulação é responsável pela receção de MPQs e pela produção dos produtos semiacabados.

#### **1.2.2.1. Análises laboratoriais para controlo de qualidade**

##### Análise de pH

O pH deve ser estudado uma vez que, a nível fabril, é um dos parâmetros de controlo de qualidade e aprovação de produtos. Tendo em conta que muitas vezes os produtos são

armazenados no armazém da Mistolin até existir uma encomenda de um cliente, é também importante analisar a estabilidade do pH a longo prazo.

O pH de uma solução é o logaritmo negativo da concentração do ião hidrogénio ( $H^+$ ) em mol/L:  $pH = -\log[H^+]$ , sendo uma unidade adimensional. Como se trata de uma função negativa, à medida que o pH aumenta, a concentração de iões de hidrogénio em solução diminui [2].

No final da execução de cada formulação é medido o pH com um C860 *Multiparameter analyser* da *Consort*, procedendo-se também ao registo da temperatura indicada pelo mesmo equipamento.

### Análise da condutividade

No final da execução de cada formulação, e após o acerto de pH para o intervalo pretendido quando este é necessário, com o mesmo equipamento utilizado para a determinação do pH procede-se à medição da condutividade e registo da temperatura.

A condutividade elétrica é um parâmetro que reflete o transporte de corrente elétrica pelos iões presentes em solução, sejam iões  $H^+$  ou outros como metais alcalinos (por exemplo sódio e potássio) ou alcalino terrosos (por exemplo cálcio e estrôncio). Desta forma, permite aos técnicos de laboratório da unidade fabril determinar se uma determinada formulação está homogénea ou não. Quando se mede a condutividade é também importante registar a temperatura, uma vez que um aumento de temperatura leva a um aumento do valor da condutividade, pois a mobilidade dos iões aumenta. *Siemens* por metro (S/m) é a unidade do sistema internacional de unidades que mede a condutividade. Sendo comum a medição deste parâmetro em micro*Siemens* por centímetro ( $\mu S/cm$ ), como para a medição da condutividade da água, que corresponde a  $10^{-4}$  S/m.

Uma vez que os produtos formulados na Mistolin contêm tensioativos (também denominados surfactantes, como por exemplo Tensidrol) não-iónicos, que não se ionizam em solução, não será espectável apresentar valores de condutividade muito elevados. No entanto, este valor também não deverá ser nulo uma vez que as formulações também contêm tensioativos

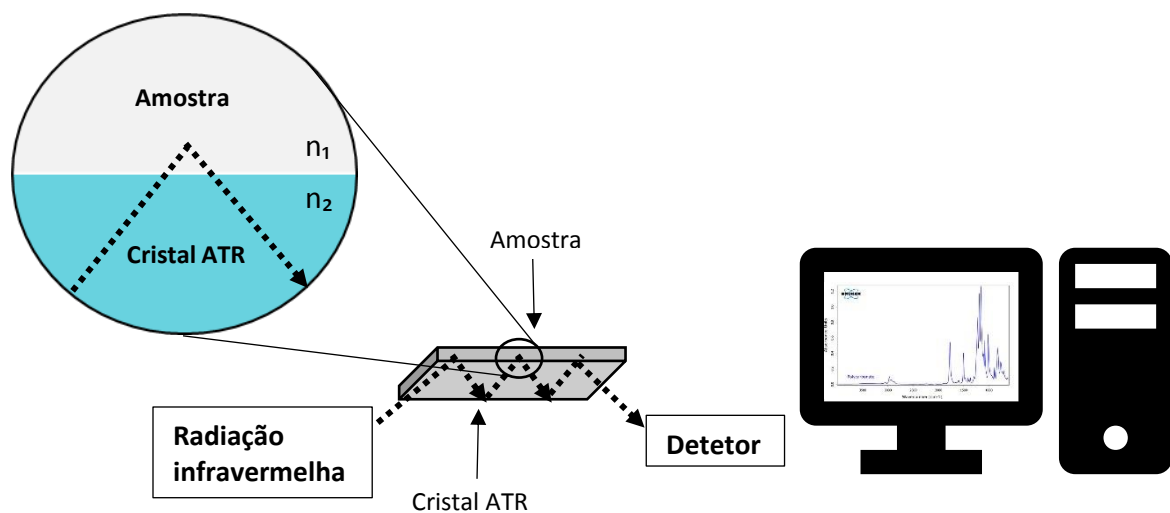


aniônicos (como por exemplo sulfonato alquilbenzeno linear (LAS)) e a água utilizada na sua formulação apresenta valores de condutividade na ordem dos  $8 \mu\text{S}/\text{cm}$ , sendo portanto um eletrólito muito fraco, contudo, não contribuem significativamente para a condutividade das formulações [2].

### Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier com Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR)

A Espectroscopia de Infravermelho (IR) estuda a interação da matéria com a radiação da zona do infravermelho do espectro eletromagnético, mais precisamente a absorção de energia da zona infravermelha do espectro eletromagnético. As mudanças de energias que ocorrem refletem as transições de estados vibracionais que as ligações das moléculas sofrem quando interagem com a radiação [3]. A técnica de espectroscopia de FTIR usa a radiação policromática para medir a excitação de ligações moleculares cujas absorvências relativas indicam o índice de abundância de vários grupos funcionais.

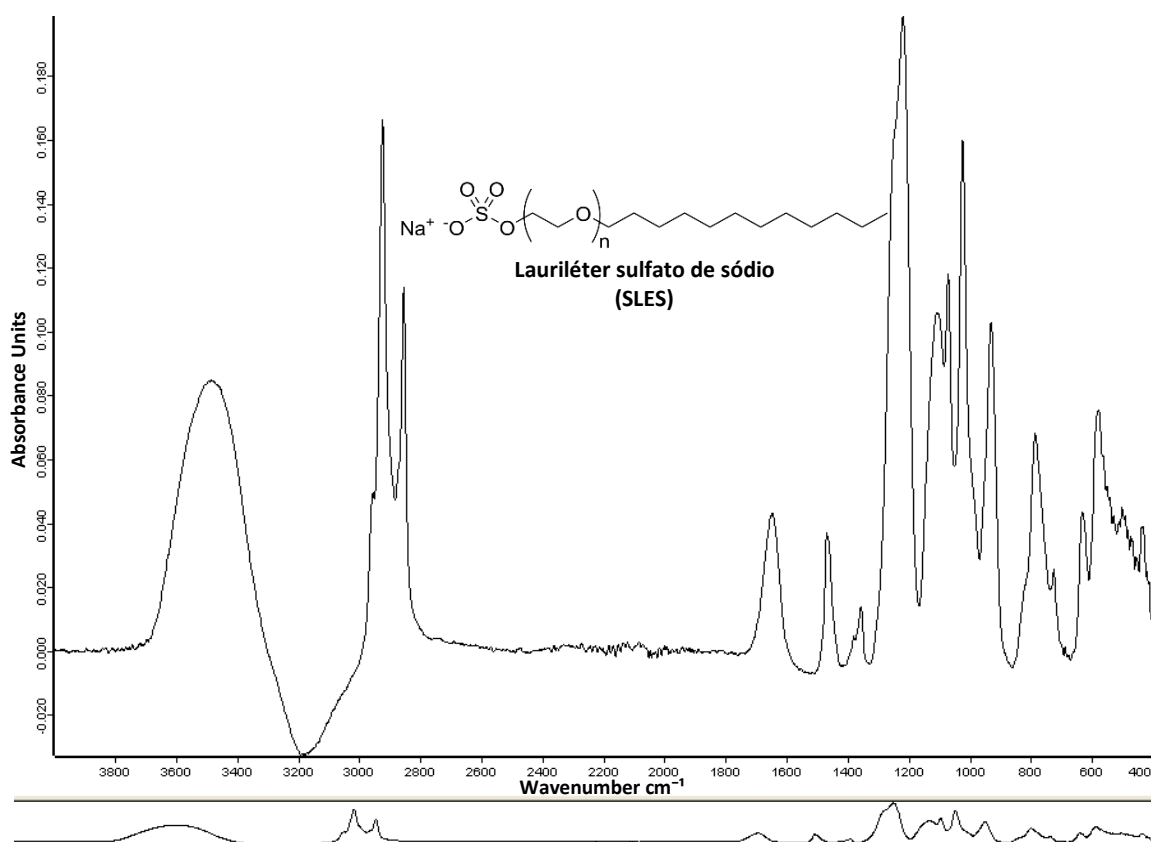
ATR refere-se ao método de preparação de amostra no qual esta é colocada diretamente sobre um cristal de relativamente maior índice de refração ( $n_2 > n_1$ ) e o feixe de radiação infravermelha é direcionado para o cristal [4], este processo encontra-se ilustrado na **Figura 3**.



**Figura 3** - Ilustração do funcionamento do método de amostragem ATR da tecnologia de espectroscopia de infravermelho FTIR (adaptado de Hindi, A. et al. [4]). n: índice de refração.

O feixe reflete a partir do interior da superfície do cristal e cria uma onda evanescente, que projeta ortogonalmente na amostra em contato íntimo com o cristal de ATR. Uma parte da energia da onda evanescente é absorvida pela amostra e a radiação refletida é devolvida para o detetor [3]. ATR tornou-se a ferramenta mais utilizada em análises FTIR uma vez que permite a análise de amostras sólidas e líquidas com pouca ou nenhuma preparação das mesmas [3], realizada na região do espectro correspondente ao número de onda médio ( $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ ).

A análise espectroscópica de MPQs é feita utilizando o espectrómetro da empresa, um FTIR-ATR *Bruker® Alpha-P* com o acessório *ATR Platinum Diamond 1*. A título de exemplo na **Figura 4** está representado um espectro obtido no laboratório da Mistolin para a análise do composto tensioativo lauriléter sulfato de sódio (SLES), usado como MPQ na formulação de vários produtos, nos termos identificados no tópico 1.2.2.2. Receção de Matérias-primas químicas.



**Figura 4** - Espectro de FTIR-ATR obtido com o equipamento da Mistolin Company para análise da MPQ lauriléter sulfato de sódio (SLES).

### Determinação da viscosidade

A reologia é a ciência que estuda o comportamento da matéria quando sofre uma deformação, trata-se de uma ciência extremamente complexa na medida em que mudanças quase insignificantes numa fórmula ou sistema coloidal podem impactar grandes mudanças em termos de comportamento reológico [5].

Medir a viscosidade é medir a resposta de um fluido simples a uma taxa de cisalhamento, ou seja, à deformação com deslocamento em planos diferentes, mantendo o volume constante [5], [6]. Os testes reológicos dão-nos informação sobre a fluidez do material, medindo as propriedades reológicas de fluidos complexos em função da velocidade de cisalhamento, também designada de tensão de cisalhamento ou tensão de corte (do inglês *shear stress*) ou da frequência da deformação [6].

### Determinação do ponto de turvação

Esta determinação é feita através do aquecimento controlado de amostras até se chegar ao ponto de turvação de cada formulação, este é definido visualmente pela mudança de aspeto de uma solução homogénea para uma solução com o aspeto de um aglomerado turvo, inicialmente mais notório na base do recipiente onde se encontra, ascendendo até ao topo. O aquecimento poderá ser feito com recurso a uma estufa ou placa de aquecimento podendo diluir-se a amostra em água.

#### **1.2.2.2. Receção de Matérias-primas Químicas**

As MPQs dão entrada na área de receção e inspeção e são armazenadas em contentores *IBC* (*Intermediate bulk container*) ou tanques, dispostos numa zona aberta e bastante ventilada com acesso direto à zona de formulação. Após a receção, são recolhidas amostras das matérias rececionadas e encaminhadas para análise no laboratório da organização, para avaliação da sua conformidade nos termos dos parâmetros descritos pelo fabricante. De um modo geral é feita uma comparação com MPQs padrão mantidas no laboratório da Mistolin Company para

avaliação do aspeto da MPQ recebida, nomeadamente da sua cor, cheiro, sendo também determinado o seu pH e densidade a 20°C. É também feita uma análise espectroscópica, por exemplo aos surfactantes sulfonato alquilbenzeno linear (LAS) e lauril éter sulfato de sódio (SLES), sendo, para o efeito, realizada a técnica de FTIR-ATR. O espectro obtido por este método é usado para garantir que se verifica uma percentagem de semelhança com o espectro do padrão superior a 95%. São também feitas titulações para determinação de teor de cloro (Cl) livre, nomeadamente para hipoclorito de sódio (NaClO), ou de peróxido de hidrogénio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), para água oxigenada. Caso esteja conforme, a MPQ é aprovada e assinalada com uma etiqueta indicativa da sua aprovação.

As várias MPQs exibem diferentes características, comportamentos e reações face à exposição às condições do meio envolvente. Podendo ser entregues por diferentes meios, formas de acondicionamento e estado físico. Algumas matérias no estado sólido são armazenadas nas embalagens em que se encontram acondicionadas quando recebidas, enquanto as substâncias líquidas e pastosas são rececionadas em barricas, IBCs ou camião cisterna de onde são transferidas diretamente para os respetivos tanques de armazenamento. O armazenamento dos IBCs e barricas é feito atendendo às características e propriedades de cada matéria, sendo definido o local de armazenamento em estantes consoante estes contenham substâncias irritantes/nocivas/perigosas, oxidantes fortes, inflamáveis, ácidos corrosivos ou corrosivos alcalinos. MPQs como hipoclorito de sódio, hidróxido de sódio em solução, e os surfactantes sulfonato alquilbenzeno linear (LAS) e lauril éter sulfato de sódio (SLES) encontram-se armazenadas em tanques no exterior da fábrica devido à sua natureza irritante/corrosiva ou tóxica.

#### **1.2.2.3. Formulação de produtos**

A formulação consiste no processo de preparação e mistura das diferentes MPQs, introduzidas por uma determinada ordem no reator de formulação, seguindo formulações específicas de forma a produzir os detergentes e produtos de limpeza comercializados pela organização.

As matérias que se encontram no estado sólido são geralmente introduzidas pelo topo do reator (**Figura 5**), enquanto as líquidas são extraídas dos recipientes onde estão armazenadas com recurso a bombas. O doseamento de cerca de 40 MPQs é feito de forma automática através deste sistema. Quando a quantidade de MPQs líquidas necessárias para a formulação



**Figura 5** - Topo de um reator de formulação da Mistolin Company.

de um produto é pequena estas podem, à semelhança dos sólidos, ser introduzidas manualmente pelo topo do reator. A água, uma das matérias-primas mais utilizadas no processo, é introduzida diretamente nos reatores, através de um sistema de canalização interno, controlado por caudalímetro, permitindo o abastecimento direto dos reatores.

Os diferentes produtos formulados são geralmente fabricados num dos sete reatores disponíveis na fábrica, alguns específicos para determinado produto, por exemplo produtos alcalinos clorados, mas, se necessário, um reator depois de limpo e acondicionado, pode ser utilizado para a produção de outro produto que não o habitual.

No setor da formulação existe ainda outro equipamento, denominado de “amassadeira”, que permite a formulação específica de determinados produtos e, é ainda utilizado para a pré-mistura de alguns produtos para posterior adição ao reator de formulação.

As fichas com as ordens de fabrico usadas para a formulação, para além da informação relativa à ordem de mistura das MPQs e quantidades a introduzir e dos parâmetros físico-químicos do processo (por exemplo pH, temperatura), permitem o registo de outras informações relevantes como, o número do reator, o operador responsável, tempo de formulação e a hora de início e fim do processo.

O tempo de formulação é variável e pode ser condicionado por fatores como a densidade e estado físico das MPQs utilizadas, o acerto de parâmetros como o pH e aprovação laboratorial. Esta aprovação depende do resultado da avaliação de três amostras do produto semiacabado preparado, através da determinação de vários parâmetros (são exemplos pH, condutividade, viscosidade, densidade, entre outros como por exemplo o ponto de turvação que é apenas determinado para os lava-loiças) e a sua comparação com os valores estipulados na ordem de fabrico, na unidade laboratorial da organização.

Depois de aprovado pelo laboratório, o produto semiacabado é transferido diretamente para os depósitos de armazenamento e posteriormente para as linhas de enchimento, com recurso a mangueiras ligadas a equipamentos designados por *manifold*. Na **Figura 6** encontra-se representado o *manifold 1*, usado para efetuar a ligação entre os reatores de formulação



**Figura 6** - *Manifold 1*, equipamento que faz a ligação dos reatores de formulação aos depósitos de armazenamento com mangueiras. Em cima: válvulas da tubagem dos depósitos; em baixo: válvulas da tubagem dos reatores.

e os depósitos de armazenamento. Se se tratar de um produto correspondente à linha profissional, o semiacabado aprovado poderá ser transferido dos reatores de formulação diretamente para contentores *IBC*.

#### **1.2.2.4. Enchimento da linha doméstica**

O enchimento de produtos da linha doméstica é feito por várias linhas de enchimento, que podem funcionar por um processo de enchimento manual ou automático, consoante o equipamento utilizado e as características do produto a encher. O processo de enchimento inicia-se com a transferência do produto a embalar do reator de formulação para os depósitos de alimentação à máquina de enchimento, depósito de armazenamento e depósito-pulmão da linha. Após o enchimento do depósito-pulmão da linha coloca-se manualmente as embalagens de produto vazias na linha. Em seguida, o enchimento das embalagens processa-se de forma automática através de bicos de enchimento, representados na **Figura 7**, após o qual são colocadas e pré-enroscadas manualmente as pistolas ou rolhas. As embalagens de produto são então sujeitas a um sistema de enroscamento automático, rotulagem e marcação de lote e validade.



**Figura 7** - Linha 5, linha de enchimento usada principalmente para o enchimento de lava-loiça.

As embalagens cheias e fechadas são verificadas para deteção de não conformidades, embaladas e armazenadas no armazém de produto acabado.

Para além do controlo laboratorial ao produto semiacabado, é realizado um controlo ao nível do enchimento das embalagens, no sentido de monitorizar a “calibração” da máquina de enchimento. O procedimento, repetido a cada hora, consiste na pesagem aleatória de 5 unidades e verificação do enquadramento na gama pretendida (com recurso a um programa informático adequado).

#### **1.2.2.5. Enchimento da linha profissional**

O enchimento de produto semiacabado ao nível da linha profissional difere do processo de enchimento da linha doméstica no destino dado ao produto semiacabado, uma vez que em vez de ser transferido para os tanques de abastecimento às linhas, é armazenado em contentores *IBC*. Estes *IBCs* são armazenados em estantes no armazém de aprovisionamento de acordo com as características dos produtos, sendo agrupados em produtos ácidos, alcalinos, alcalinos clorados, os produtos oxidantes e inflamáveis são intercalados com produtos neutros, como por exemplo lava-loiça. O enchimento dos vasilhames de produto final é realizado de forma manual e unidade a unidade, na linha profissional e diretamente de *IBCs* em locais reservados para este fim. Após o enchimento, os vasilhames de produto acabado são acondicionados em paletes e armazenadas no armazém de aprovisionamento.

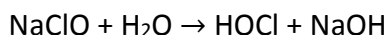
#### **1.2.2.6. Atividades auxiliares ao processo produtivo**

Paralelamente ao processo de formulação e de enchimento decorrem na unidade fabril outras atividades auxiliares que permitem o correto desempenho do processo produtivo. Consideram-se como atividades auxiliares a captação de água, a unidade de produção de vasilhames e a ETARI (Estação de Tratamento de Águas Residuais Industriais). Destas atividades destaca-se a captação de água uma vez que é a partir desta que se obtém a principal matéria-prima da produção, a água de processo.

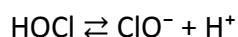


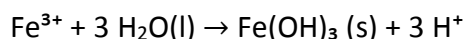
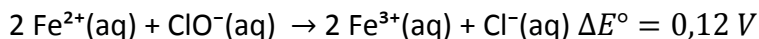
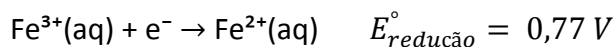
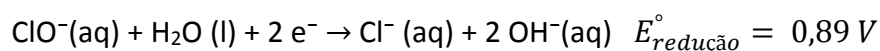
Na empresa é feita captação de água a partir de um furo licenciado a 200 m de profundidade, assim como o seu tratamento para que possa ser utilizada no processo produtivo. A água captada possui uma temperatura ligeiramente elevada (cerca de 30°C) e uma grande variedade de sais (entre os quais boro, estrôncio, sódio e ferro) que lhe conferem uma condutividade elevada e, dado que a água representa a principal matéria-prima da produção, é necessário realizar um tratamento adequado, de forma a garantir determinados parâmetros para a utilização da mesma. Para tal é realizada a desmineralização da água captada, que tem como objetivo a remoção de iões presentes na água, de forma a prevenir eventuais problemas no processo de produção relacionados com contaminações químicas. Um exemplo do tipo de problemas que poderá surgir é a produção de um produto instável e a consequente degradação do mesmo, que se traduz na formação de precipitados ou mudança de cor no produto devido à interação do ferro presente na água com agentes oxidantes, como por exemplo hipoclorito de sódio, utilizados na formulação do produto.

De uma forma geral, a água captada é armazenada em dois reservatórios, aos quais é adicionada uma pequena quantidade de hipoclorito de sódio diluído ( $\text{NaClO}$ ), um oxidante forte, para promover a precipitação do ferro na forma de hidróxido de ferro (III) [7], um sal pouco solúvel em água (evidenciado pela sua constante de solubilidade bastante baixa,  $K_{\text{Fe}(\text{OH})_3} = 6,3 \times 10^{-38}$  [8]). A mistura de hipoclorito de sódio em água resulta na formação de ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ) e iões hidróxido ( $\text{OH}^-$ ) [9]:



uma reação que eleva o pH da água, promovendo a reação de oxidação do ferro em solução, na forma ferro(II) para a forma ferro(III), que é precipitado sob a forma de hidróxido de ferro (III) ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ) [7], [10] as reações químicas características desta etapa são:





O precipitado de ferro deposita-se no fundo do tanque enquanto o fluido sobrenadante segue para a zona de filtração onde se encontra um sistema de filtros de areias.

A água é posteriormente sujeita a um processo de tratamento por carvão ativado e a um sistema de resinas catiónicas e aniónicas. O sistema de tratamento com carvão ativado é composto por uma coluna de enchimento de carvão ativado, onde ocorre a adsorção de compostos orgânicos e de compostos que têm essencialmente cloro ou carbono na sua composição, permitindo a redução do odor, assim como a eliminação da cor da água captada. O sistema de resinas catiónicas e aniónicas é composto por duas colunas de enchimento destinadas a cada uma delas. A água que abandona a coluna de enchimento de carvão passa por um filtro de partículas e entra pelo topo da coluna de resina catiónica. O processo de desmineralização da água com resina catiónica tem como princípio a permuta de iões  $\text{H}^+$  por catiões metálicos, como cálcio, magnésio, potássio, sódio, entre outros metais presentes na água. A água é então transferida da base da coluna de resina catiónica para o topo da coluna de enchimento que contém resina aniónica. Esta coluna retém essencialmente cloretos, sulfatos, carbonatos, nitratos e sílica. O processo de desmineralização com resina aniónica tem como princípio a permuta de iões hidróxido por aniões.

A esta água desmineralizada é adicionada uma pequena quantidade de  $\text{NaClO}$ , que atua como desinfetante de forma a garantir o controlo de alguns parâmetros microbiológicos. Por último, a água tratada é armazenada num tanque de abastecimento e outro de reserva, estando constantemente em recirculação pela tubagem a esta destinada, através de um sistema de bombas motorizado. Para assegurar a qualidade da água de processo é feito semanalmente um controlo no laboratório da organização, nomeadamente a avaliação do aspeto da água em

termos de cor e cristalinidade, medição de pH e condutividade, quantificação de ferro da gama baixa (deverá ser  $<40 \mu\text{g/L}$ ) e de cloro livre (deverá encontrar-se no intervalo de  $0,30 \text{ mg/L}$  a  $0,40 \text{ mg/L}$ ). Adicionalmente é feito um controlo de qualidade à água de processo através de análises efetuadas por um laboratório externo. Mensalmente é realizada a contagem de colónias a  $36^\circ\text{C}$ , de acordo com a norma ISO 6222:1999 (descrita no tópico 2.4 Legislação relevante), para descartar a presença de contaminantes microbiológicos e quinzenalmente faz-se a determinação da condutividade a  $20^\circ\text{C}$ , da dureza total, de pH, quantificação de ferro e do potencial redox, para determinar se a desmineralização da água foi efetuada corretamente. Neste laboratório também é feita a quantificação de cloro residual livre, para assegurar que é suficiente para garantir o impedimento do desenvolvimento de contaminantes microbiológicos, não interagindo com as matérias primas químicas na formulação. Os efluentes líquidos resultantes do processo de desmineralização são conduzidos e tratados na ETAR da Mistolin Company, não voltando a ser utilizados para o processo produtivo.

## **2. Estado atual da higienização em indústrias aplicável à Mistolin Company**

O termo “higienização” refere-se ao conjunto de práticas que tem como objetivo devolver ao ambiente de processamento (superfícies das instalações e equipamentos) a sua boa condição higiénica inicial. Pode referir-se apenas ao processo de limpeza, que consiste essencialmente na eliminação de restos de produto e outras partículas que ficam sobre as superfícies ou à combinação deste processo com um processo de desinfecção, cuja função é a destruição ou remoção de microrganismos com recurso a agentes químicos biocidas, dependendo do nível de higiene requerido, assim como do tipo de produto fabricado. A desinfecção é especialmente necessária em superfícies húmidas, as quais oferecem condições favoráveis ao crescimento de microrganismos [11]. O termo “esterilização”, apesar de ser semelhante a desinfecção, com a particularidade de poder consistir num processo físico ou químico, é usado quando a destruição e remoção dos microrganismos inclui os seus esporos [12], [13]. Esta propriedade é particularmente importante para indústrias como a alimentar e farmacêutica, e

adicionalmente em hospitais e laboratórios, onde o controlo microbiano deve ser mais rigoroso [13]. Para o efeito deste trabalho o termo “higienização” refere-se ao processo de limpeza seguido de desinfecção.

### **2.1. Práticas de higienização geralmente aplicadas em indústrias**

Para executar práticas de higienização eficazes, quer automatizadas quer manuais, torna-se necessário compreender as operações que as constituem e a forma mais adequada para validar estes procedimentos de limpeza e desinfecção de forma a garantir um ambiente de produção seguro e evitar potenciais contaminações no produto final [14].

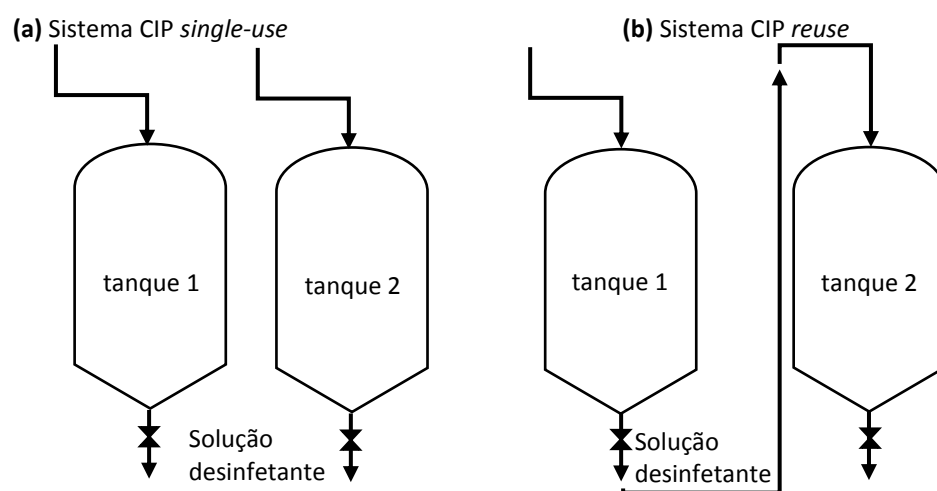
O modo de atuação dos procedimentos de higienização deve ter em conta os locais identificados como pontos críticos de potencial contaminação microbiana e acumulação de subprodutos da produção que possam existir no sistema de processamento da indústria em questão [15]. Devem ser respeitados os parâmetros de limpeza requeridos, a natureza física do equipamento a ser higienizado e dos subprodutos do processo produtivo a eliminar, a duração do momento de higienização e a seleção do(s) desinfetantes(s) [14],[16].

De um modo geral os sistemas de limpeza utilizados na indústria são separados em três categorias, *cleaning-in-place* (CIP), *cleaning-out-of-place* (COP) e limpeza ambiental. O sistema CIP é o que requer menor intervenção humana, pois é um processo automatizado que consiste na limpeza das superfícies internas de elementos do sistema de produção (reatores, tubos, linha de enchimento e outras estruturas) sem requerer a desmontagem ou abertura dos equipamentos de produção para que se realizem as operações de limpeza e desinfecção. O sistema COP requer a remoção de equipamentos de produção ou porções deste, bem como ferramentas de produção relacionados a uma área externa para a limpeza, desinfecção e secagem, que deverão voltar a ser montados posteriormente. A limpeza ambiental refere-se à limpeza das superfícies externas aos equipamentos de processamento do produto dentro das instalações da indústria e é geralmente feita manualmente. Apesar de diferentes estas três categorias têm em comum a ordem de operações, sendo a primeira efetuada a limpeza,

geralmente seguida pela desinfecção, embora os desinfetantes e procedimentos devam ser adaptados às características do produto fabricado e aos requisitos regulamentares [17].

O sistema CIP, por permitir a limpeza de circuitos não só abertos como também fechados, é o mais frequentemente adotado nas indústrias, onde estão envolvidos equipamentos mais complexos e operações em grande escala, sendo os principais exemplos mencionados na bibliografia os setores alimentar e farmacêutico. A aplicação deste sistema carece da posse de recipientes de armazenamento e recuperação das soluções de limpeza, assim como válvulas, bombas e tubagens para o transporte das mesmas por todo o sistema de produção e instrumentação de campo para permitir que a limpeza ocorra de forma, de um modo geral automática [16]. O sistema CIP poderá variar em complexidade e grau de automação, sendo a sua eficiência e a relação custo-eficácia também variáveis, dependendo dos parâmetros de funcionamento e design do sistema.

O design do sistema CIP (**Figura 8**) classifica-se de acordo com o destino final da solução de higienização em, CIP de single-use, quando esta solução apenas é usada uma vez e posteriormente descartada, atuando num único tanque ou reator; e CIP de reuse, no qual a solução de higienização é utilizada para a higienização de vários tanques e linha do circuito de produção, sendo recolhida depois de concluída a higienização de cada reator e transportada



**Figura 8** – Designs do sistema de higienização CIP (a) Single use (b) Reuse

pelas tubagens que fazem a ligação entre os reatores.

Cada um destes sistemas tem as suas vantagens e desvantagens associadas, sendo as vantagens do sistema *single-use* a simplicidade e baixo custo associado à sua instalação, e as desvantagens o elevado custo operacional e impacto ambiental [14], [18]. Estas características fazem com que a aplicação do sistema CIP *single-use* seja adequada para instalações fabris pequenas, em processos onde se prevê que possa ocorrer contaminação cruzada e em equipamentos onde se deposite muita sujidade resultante do processo produtivo. O sistema CIP *reuse* poderá ser mais adequado para instalações fabris de maior dimensão, apresentando como vantagens custo operacional e impacto ambiental mais baixos, sendo as desvantagens deste sistema a maior complexidade e respetivo custo associado à sua instalação, bem como a necessidade de monitorizar o estado e eficácia da solução de limpeza recuperada [16], [17], [19].

## **2.2. Contaminantes encontrados em superfícies de equipamento industrial**

A utilização de agentes de limpeza e desinfetantes eficazes nas superfícies do equipamento de produção em contacto com o produto é indispensável de forma a minimizar a sua contaminação e consequentemente melhorar o seu tempo de prateleira e reduzir os riscos de presença de agentes possivelmente alergénicos. Os contaminantes estão inevitavelmente presentes na natureza como subprodutos de processos naturais, assim como subprodutos de atividades humanas e industriais [20].

De um modo geral, os contaminantes usualmente encontrados nas superfícies em indústrias incluem partículas (por exemplo poeiras, metais e plásticos), compostos orgânicos (hidrocarbonetos ou tensioativos, presentes em vários produtos de limpeza) ou inorgânicos (gases ácidos, bases), iónicos (como  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  ou  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{SO}_3^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ ) e contaminantes microbianos (bactérias e fungos), que possuem uma tendência natural para se desenvolverem em ambientes húmidos e a temperaturas moderadamente elevadas [20]. Outras possíveis fontes de contaminação comuns, geralmente identificadas em superfícies empregadas em

indústrias específicas, podem ser óleos e gorduras presentes na maquinaria industrial, fluidos hidráulicos e de limpeza, adesivos, ceras e até fontes de contaminação humana [21]. Os tensoativos representam possivelmente as moléculas mais utilizadas no fabrico de detergentes, sendo responsáveis por várias ações, entre as quais emulsão da sujidade e especialmente das gorduras, aumento da capacidade molhante da água, manutenção da sujidade em suspensão (propriedades dispersantes), formação de espuma e até mesmo pelos efeitos antiespumantes de alguns detergentes.

Em termos de aplicação prática, cada empresa deve conhecer quais as fontes de contaminação típica associada ao seu produto e características do equipamento, de forma a adequar o desinfetante ao tipo de contaminação verificada. Na **Tabela 2** (adaptada de [22],[23],[24]) encontra-se um quadro comparativo entre a propriedades dos principais desinfetantes químicos, relativamente ao seu efeito nalguns dos principais contaminantes microbiológicos e propriedades a considerar tendo em conta os equipamentos e processos produtivos desenvolvidos na indústria. Desta tabela destacam-se os desinfetantes cujo composto ativo são compostos quaternários de amónio (CQA) uma vez que a sua ação desinfetante aparenta não ser afetada pela presença de matéria orgânica e por ser o único desinfetante a não apresentar um efeito corrosivo sobre os materiais aos quais é aplicado, comparativamente aos desinfetantes químicos principalmente utilizados neste contexto. Os CQA são incompatíveis com substâncias/materiais geralmente não presentes nos equipamentos em contacto com o produto no momento de desinfecção, como por exemplo madeira ou agentes surfactantes aniónicos. Desta forma, este tipo de desinfetante poderá adequar-se a indústrias de produção de produtos de limpeza, uma vez que exibe um efeito biocida sobre bactérias Gram-positivas (por exemplo *Staphylococcus aureus*) e esporos, já que o desenvolvimento de bactérias Gram-negativas como *E.coli* e *Salmonella* é caracteristicamente associado à produção de bens alimentares [25]. A maior suscetibilidade das bactérias Gram-positivas, deve-se à ausência da membrana externa na parede celular, facilitando o ataque de biocidas uma vez que os desinfetantes que contêm CQA tem como zonas preferenciais de ataque nos microrganismos a parede celular.

**Tabela 2-** Comparação entre as propriedades dos principais desinfetantes químicos para higienização de equipamentos industriais.

Propriedades			Compostos de cloro	de Compostos de iodo	Compostos quaternários de amónio
Ação biocida contra bactérias Gram positivas (por exemplo bactérias lácticas, clostrídios, <i>Bacillus</i> , <i>Staphylococcus</i> )			Bom	Bom	Bom
Ação biocida contra bactérias Gram negativas (por exemplo <i>E. Coli</i> , <i>Salmonella</i> , bactérias psicrótróficas)			Bom	Bom	Mau
Ação biocida contra esporos			Bom	Mau	Regular
Corrosivo			Sim	Ligeiramente	Não
Afetado por matéria orgânica			Muito	Um pouco	Pouco
Incompatível com			Fenóis, aminas, metais brandos	Amido Prata	Agentes surfactantes (tensioativos) aniónicos, sabão, madeira, celulose
Estabilidade da solução de uso			Dissipa-se rapidamente	Dissipa-se lentamente	Estável
<b>Exemplos</b>			Hipoclorito de cálcio/sódio	de Iodopovidona	Cloreto de benzalcónio

### 2.3. Avaliação da eficiência dos processos de higienização

Para uma avaliação da eficiência da higienização confiável é necessário definir o conceito de equipamento higienizado, com parâmetros devidamente estabelecidos, metodologias de medição da performance do processo de higienização fidedignas e o registo e documentação



dos resultados obtidos, com a respetiva interpretação. A metodologia a aplicar é vasta, sendo a bibliografia existente referente às indústrias farmacêutica e alimentar, que têm vindo a implementar vários métodos de avaliação de riscos reconhecidos tais como por exemplo: análise de modos de falha e seus efeitos, análise da criticidade de modos de falha e seus efeitos, análise da árvore de falhas, análise de perigos operacionais e análise de perigos e controlo de pontos críticos (HACCP).

Neste trabalho destaca-se o método **HACCP**, amplamente aplicado na indústria alimentar, sendo a sua implementação uma das vertentes de serviços fornecidos pela empresa. Este método consiste num processo sistemático baseado em sete princípios [26]:

1. Efetuar uma análise de perigos e identificar as respetivas medidas;
2. Identificar os pontos críticos de controlo (etapas do processo em que é necessário controlar as condições em que se processam, por exemplo T e pH de forma a assegurar o seu correto funcionamento);
3. Estabelecer limites críticos para as medidas de controlo associadas a cada ponto crítico de controlo;
4. Estabelecer processos de controlo (monitorização) dos pontos críticos de controlo e procedimentos para utilização dos resultados da monitorização para ajustar o processo e manter o controlo;
5. Estabelecer ações corretivas para o caso de desvio dos limites críticos;
6. Estabelecer procedimentos de verificação para averiguar se o sistema está a funcionar de forma adequada.
7. Estabelecer um sistema para registo de todos os controlos;

O processo de higienização que se pretende avaliar neste trabalho trata-se de um pré-requisito que deve ser contemplado para permitir a aplicação efetiva de um sistema HACCP. A adequação de um processo de higienização pode ser avaliada qualitativamente quanto à presença de resíduos (inspeção visual) e por monitorização do processo, e quantitativamente através do controlo analítico químico (p. e. medição de pH) e a nível microbiológico.

No caso do processo de desinfecção, para verificar se este está a funcionar de forma adequada são geralmente seguidas as normas para quantificação microbiológica propostas pela Organização Internacional de Normalização (ISO) [20]. Para a obtenção de resultados quantitativos são utilizadas zaragatoas ou *contact slides*, para recolha de amostras, seguida da sua cultura em meio nutritivo e quantificação de qualquer contaminante (geralmente bactérias ou fungos) e grau de contaminação. Este método também poderá ser usado para a deteção de microorganismos específicos na superfície de teste (reatores, recipientes, tubagens, etc.) [14], idealmente em áreas pouco acessíveis (pontos críticos de contaminação) nas quais se suspeita que possa ocorrer contaminação ou a higienização não tenha sido eficiente.

As zaragatoas, depois da recolha de amostra das superfícies de teste são colocadas numa pequena quantidade de diluente estéril. Neste método a determinação do grau de contaminação é realizada pelo método de contagem de células viáveis em placas e por um teste de pesquisa de bactérias coliformes [14], [18]. Este método apresenta algumas desvantagens como por exemplo o local de recolha da amostra, geralmente de fácil acesso e consequentemente presumivelmente mais fácil e eficientemente limpo, podendo os resultados obtidos ser pouco conclusivos. Também se poderá efetuar recolha de amostra de produto final para cultura com meio nutritivo, no entanto a principal desvantagem associada este método passa pela dificuldade em identificar qual a causa/local de contaminação, assim como a baixa probabilidade em detetar níveis de contaminação baixos [27].

Amostras de água resultante do enxaguamento, recolhidas em linhas de enchimento, por exemplo, são também utilizadas com a mesma finalidade em situações em que uma quantidade de diluente estéril pode ser introduzido numa extremidade da linha de produção e recolhido assepticamente na outra, tendo desta forma entrado em contacto com as mesmas superfícies que o produto [20],[28].

## 2.4. Legislação relevante

A legislação aplicável a uma indústria produtora de produtos higiene e limpeza, descrita na **Tabela 3**, incide essencialmente sobre o produto final, especificamente os produtos que

**Tabela 3** - Requisitos legais aplicados à fábrica.

Descrição do Requisito	Documento	Âmbito
Normas definidas pela ISO para enumeração de leveduras e fungos filamentosos (bolores) em produtos cosméticos	ISO 16212:2008	Produto final
Normas definidas pela ISO para pesquisa de estafilococos coagulase positiva em produtos cosméticos	ISO 22718:2006	
Normas definidas pela ISO para contagem de microrganismos aeróbios mesófilos em produtos cosméticos	ISO 21149:2006	
Normas definidas pela ISO para enumeração de microorganismos cultiváveis presentes na água	ISO 6222:1999	Água de processo

poderão entrar em contacto com a pele do consumidor. A estes produtos aplicam-se normas definidas pela Organização Internacional de Normalização designadas a produtos cosméticos, particularmente para quantificação de leveduras e fungos filamentosos presentes na amostra de produtos cosméticos, a norma ISO 16212:2008, através da contagem das unidades formadoras de colónias (ufc) por mililitro ou grama de um meio de cultura seletivo de agar após a incubação aeróbia [29]. A norma definida pela ISO para pesquisa de estafilococos coagulase positiva, para a deteção e identificação do microrganismo *Staphylococcus aureus* em produtos cosméticos, ISO 22718:2006 [30], uma das espécies mais infecciosas das bactérias do género *Staphylococcus*, responsável por várias infeções da pele. A norma ISO 21149:2006, definida pela ISO para a quantificação de microrganismos aeróbios mesófilos, que se desenvolvem a temperatura moderada, a verificada durante o processo de produção e armazenamento deste tipo de produtos. Esta quantificação é feita através da contagem das colónias em meio de agar não seletivo após incubação aeróbia ou da verificação de ausência de crescimento bacteriano após nutrição do meio [31].

A água utilizada no processo de produção é também sujeita a quantificação de colónias cultiváveis nela presentes, cumprindo a norma ISO 6222:1999, através da contagem das unidades formadoras de colónias (ufc) por mililitro de amostra após a incubação aeróbia em meio de agar com extrato de levedura [32].

### **3. Caracterização dos processos de higienização aplicados na Mistolin Company**

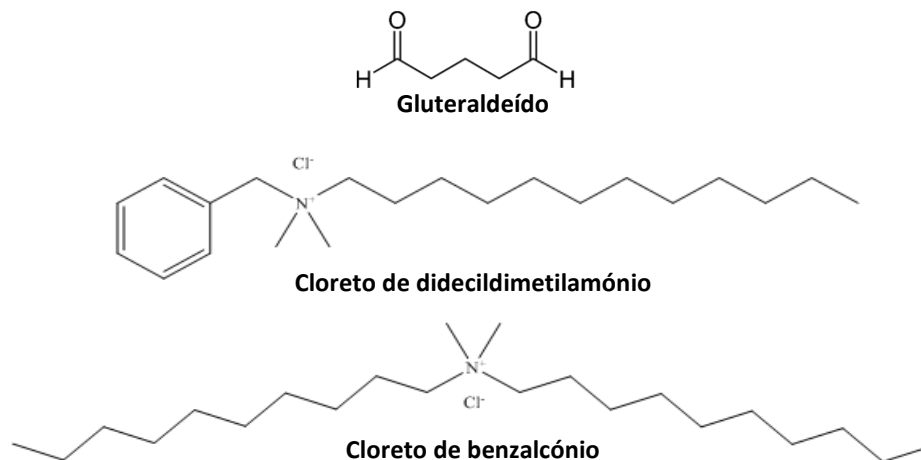
Todos os equipamentos envolvidos no processo produtivo da empresa (reatores de formulação, depósitos de armazenamento e linhas de enchimento) são submetidos a uma etapa de limpeza após cada fabrico, sempre que se inicia a produção de um produto diferente. Esta etapa consiste no enxaguamento dos equipamentos, através da adição de água e um agente anti espuma (SICOLOX A 200, composto por polidimetilsiloxano,  $\text{—[O—Si(CH}_3\text{)}_2\text{]}_n\text{—}$ ) seguida do seu descarte, procedendo-se ao enxaguamento do equipamento mais duas vezes. O processo de higienização (limpeza + desinfecção) é efetuado quando há um período de pausa na produção com frequência variável, dependendo do equipamento e produtos formulados no seu interior. O processo de desinfecção é frequentemente efetuado nos últimos dias da semana próximo do fim do horário laboral.

#### **3.1. Identificação de medidas de higienização em prática na Mistolin Company**

O desinfetante utilizado para desinfecção dos reatores da formulação e das linhas de enchimento é o desinfetante concentrado multifunções, DMC-80. Com base na informação cedida pela Mistolin Company, sabe-se que se trata de um produto ácido (com um pH entre 1,0 e 2,0), não oxidante com forte poder bactericida e virucida. O desinfetante DMC-80, cuja densidade ronda os 0,98 g/L, apresenta uma ténue coloração rosa, com uma percentagem de matéria ativa de 36,5% e taxa de biodegradabilidade superior a 90%.

A sua formulação baseada em gluteraldeído (um dialdeído alifático de baixo peso molecular usado devido à sua ação virucida, sendo também esporicida) e compostos quaternários de amónio (especificamente o cloreto de didecildimetilamónio ( $\text{C}_{22}\text{H}_{48}\text{ClN}$ ) e o cloreto de

benzalcónio ( $C_{22}H_{40}ClN$ ) pela sua ação bactericida e fungicida), cuja estrutura se encontra representada na **Figura 9** e que lhe permite abranger uma vasta gama de microorganismos [12], [33]. O gluteraldeído atua na alquilação de grupos sulfidril, hidroxil, carboxil e amino dos microrganismos alterando seu DNA, RNA e síntese de proteínas [12]. O cloreto de didecildimetilamónio causa a disrupção das interações intermoleculares e a dissociação das



**Figura 9** - Estrutura de gluteraldeído e dos compostos quaternários de amónio cloreto de didecildimetilamónio e cloreto de benzalcónio.

bicamadas lipídicas e o cloreto de benzalcónio usualmente atua na modificação de proteínas ou no rompimento da membrana plasmática [33].

Este produto trata-se de um desinfetante terminal indicado para aplicação em superfícies previamente limpas e enxaguadas, sendo adequado para a indústria agroalimentar e instalações agropecuárias. Depois de ser feita a limpeza e enxaguamento prévios da zona a desinfetar, o desinfetante é aplicado (por pulverização ou imersão) com uma diluição entre 0,3 e 2%, tempo de atuação de 30 minutos a temperatura ambiente. Ao fim desse tempo deve-se enxaguar abundantemente para eliminar todos os resíduos de produto [34].

### 3.1.1. Procedimento de desinfecção dos reatores de formulação

O procedimento de desinfecção aplicado aos reatores da formulação é efetuado com uma frequência variável, de acordo com o tipo de produto formulado no seu interior. Nos reatores

envolvidos na produção de produtos de higiene pessoal e lavanderia, por exemplo sabonete líquido e amaciador de roupa, este processo é feito semanalmente. Anteriormente ao processo esquematizado, devido a estes produtos deixarem um resíduo “gorduroso” nas paredes do reator, é feito um enxaguamento com água e hidróxido de potássio (KOH), cuja elevada alcalinidade promove a saponificação de gorduras e óleos vegetais formando sabonetes solúveis.

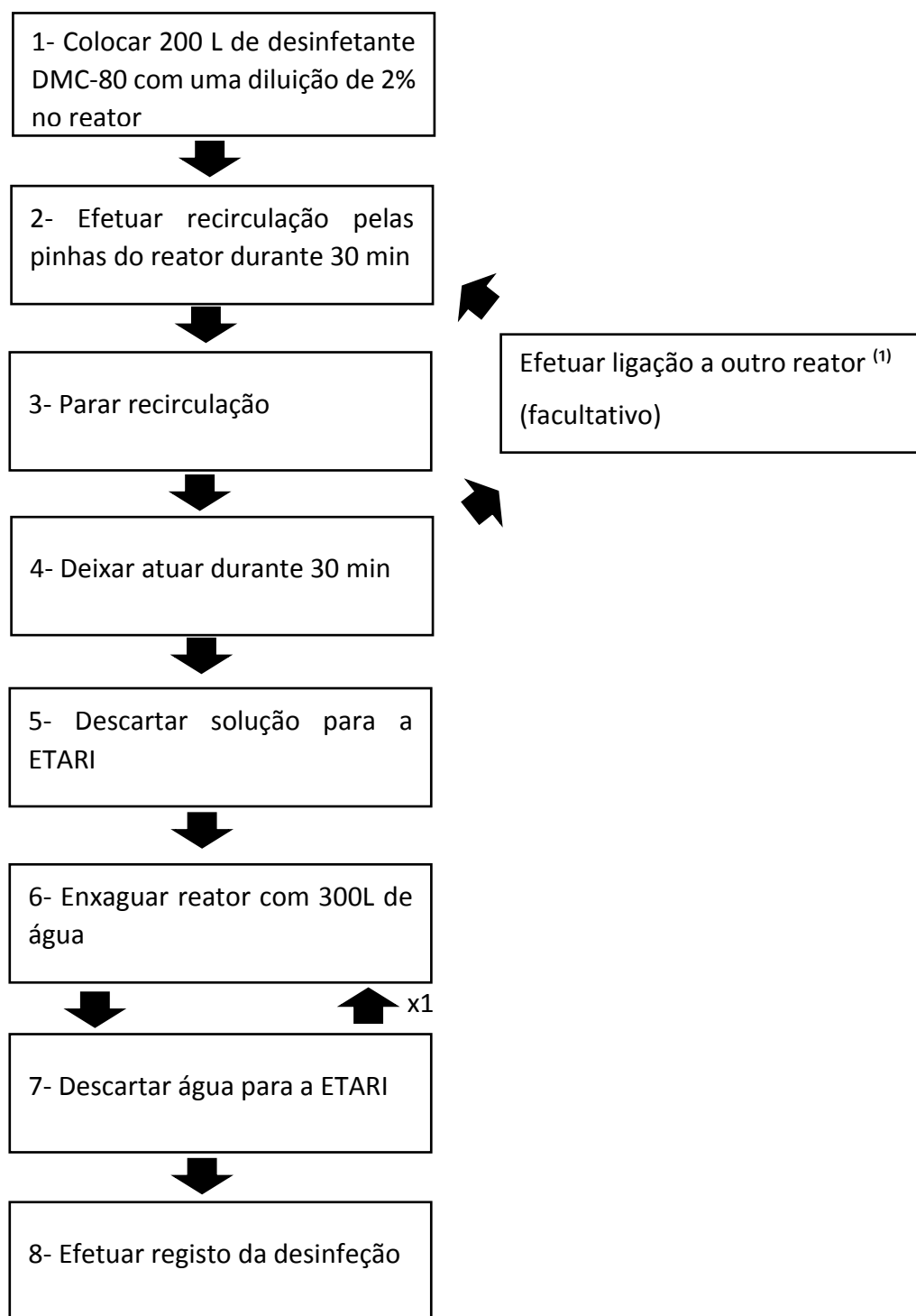
A desinfecção dos reatores envolvidos na produção dos produtos restantes é feita mensalmente, havendo um único reator responsável pela produção de detergentes alcalinos clorados, com pH 13-14, no qual se faz desinfecção trimestral. O procedimento de desinfecção dos reatores de formulação inicia-se com a adição de 200L de DMC-80 com uma diluição de



**Figura 10** - Pinha de um reator de formulação da Mistolin Company.

2% em água, após a qual é feita a recirculação deste volume de solução desinfetante. Este passo é efetuado com recurso às pinhas do reator (**Figura 10**), utilizadas para aumentar a superfície de contacto da água/ solução desinfetante com as paredes do reator [35]. Ao fim de 30 minutos o processo de recirculação é interrompido para que a solução desinfetante possa atuar durante mais 30 minutos, ao fim dos quais a solução é descartada para a ETARI da empresa ou transferida para outro reator, de forma a ser reutilizada. Depois de esvaziado o reator é enxaguado com um volume de 300L de água, posteriormente descartada para a ETARI, estes passos são repetidos e é feito o registo da desinfecção. Este procedimento encontra-se

esquemático na **Figura 11**.



**Figura 11** – Esquema do procedimento de desinfecção dos reatores de formulação.

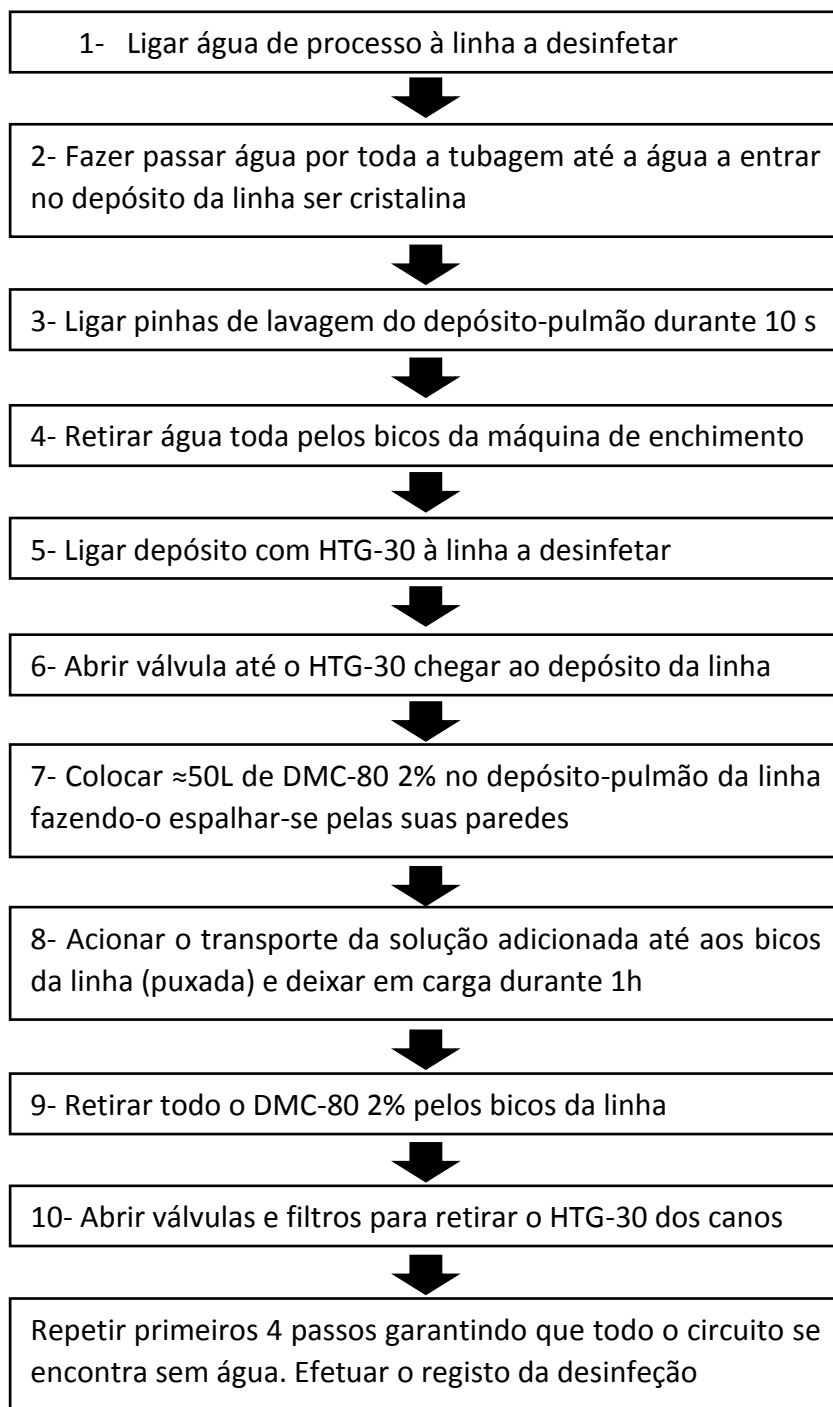
<sup>(1)</sup>procedimento facultativo para reutilização da solução desinfetante

### 3.1.2. Procedimento de desinfecção das linhas de enchimento

O procedimento de desinfecção é aplicado às linhas de enchimento mensalmente, com o desengordurante HTG-30 e o desinfetante DMC-80 2% ou apenas HTG-30, de acordo com o tipo de produto em contacto com o seu interior. No entanto, durante o estágio e independentemente do trabalho nele desenvolvido, passou a utilizar-se na desinfecção de todas as linhas. A desinfecção da linha correspondente a produtos de uso profissional é feita com HTG-30 através da desinfecção dos depósitos onde se encontram armazenados. HTG-30 é um desengordurante com elevada alcalinidade (pH 13-14), ideal para garantir o desagregamento das gorduras, a frio ou a quente. Este produto remove gorduras acumuladas, óleos, sujidades orgânicas e manchas de todas as superfícies laváveis, sendo especialmente indicado para a limpeza de equipamentos utilizados na indústria alimentar. A sua formulação é baseada em tensioativos aniónicos e não iónicos e hidróxido de potássio (KOH), cuja elevada alcalinidade permite que estes produtos saponifiquem gorduras e óleos vegetais formando sabonetes solúveis e trabalhando também com surfactantes para dispersar contaminantes [36].

O procedimento de desinfecção das linhas de enchimento, esquematizado na **Figura 12**, inicia-se com a ligação da água de processo à linha de enchimento a desinfetar, fazendo-se passar esta água por toda a tubagem da linha até se observar que a água a entrar no depósito-pulmão da linha possui um aspeto cristalino. De seguida ligam-se as pinhas de lavagem do depósito-pulmão da linha durante 10 segundos para lavar as suas paredes, sendo toda a água deste depósito retirada pelos bicos de enchimento (**Figura 13**) com mangueiras e descartada para recipientes. Ao concluir este passo, faz-se a ligação de um depósito que contenha HTG-30 à linha a desinfetar no *manifold 2* (**Figura 14**), procedendo-se então à abertura da válvula que controla a transferência do conteúdo do depósito até este atingir a válvula do depósito-pulmão da linha, nesse momento fecham-se ambas as válvulas.





**Figura 12** - Esquema do procedimento de desinfecção das linhas de enchimento.

No depósito-pulmão da linha, adicionam-se 50L de DMC-80 com uma diluição de 2% em água de forma a espalhar a solução desinfetante pelas suas paredes. O transporte da solução adicionada até aos bicos da linha (puxada) é acionado imediatamente, deixando-se esta solução em carga durante 1h ao fim da qual é retirada pelos bicos de enchimento (**Figura 13**).



**Figura 13** - Bicos de enchimento de uma linha de enchimento da Mistolin Company.



**Figura 14** - Manifold 2, equipamento que faz a ligação dos depósitos de armazenamento às linhas de enchimento com mangueiras. Em cima: válvulas da tubagem das linhas; em baixo: válvulas da tubagem dos depósitos.

De seguida abrem-se as válvulas do depósito-pulmão e repetem-se os passos 1, 2 e 4 e, depois de verificar que o circuito se encontra sem água, faz-se o registo da desinfecção.

### **3.1.3. Alterações implementadas durante o estágio no procedimento de desinfecção dos depósitos de armazenamento**

No momento em que se iniciou o estágio a que este trabalho se refere a empresa não possuía um procedimento oficial de desinfecção dos depósitos de armazenamento de produto. Depois de cada utilização procedia-se à limpeza dos depósitos e, uma vez por mês, ao enchimento com o tira-gorduras HTG-30. Posteriormente implementou-se um procedimento de desinfecção semelhante ao dos reatores de formulação que passou a ser aplicado mensalmente. Contrariamente aos reatores de formulação os depósitos não possuem um sistema para efetuar a recirculação ou pulverização uniforme das paredes dos depósitos com solução desinfetante, uma vez que as pinhas localizadas no seu interior apenas possuem ligação à tubagem correspondente à água de processo. Atualmente o procedimento de desinfecção dos depósitos de armazenamento de produto inicia-se com a pulverização de solução desinfetante DMC-80 2% nas paredes do depósito com recurso a uma máquina de pulverização manual. De seguida a solução desinfetante fica a atuar no interior do depósito durante 30 minutos, ao fim dos quais é descartada para a ETARI da empresa. Depois de esvaziado o depósito é enxaguado com um volume de 300L de água, dispensado através de pinhas situadas no topo do depósito, posteriormente descartada para a ETARI. É efetuado um novo enxaguamento e descarte da água, sendo por último feito o registo da desinfecção.

### **3.2. Identificação das medidas de avaliação microbiológica dos vários equipamentos e estruturas intervenientes no processo de produção**

Atualmente as técnicas de avaliação microbiológica das superfícies dos equipamentos envolvidos no processo produtivo da Mistolin Company efetuam-se no laboratório interno da organização. Adicionalmente a empresa recorre a um laboratório externo para a avaliação

microbiológica de cada lote de produtos finais de higiene pessoal e detergentes de loiça de uso doméstico. A água utilizada na formulação dos produtos e higienização dos equipamentos que entram em contacto com os mesmos também é testada neste laboratório, como já foi mencionado.

Quanto à análise microbiológica de superfícies dos equipamentos envolvidos no processo produtivo em contacto com o produto, esta é feita mensalmente, com recurso a Preventol®Dipslides (Lanxess) (**Figura 15**). Este trata-se de um kit de teste de uso único estéril, com meio de cultura de agar nutritivo em ambos os lados de um tubo de plástico, que permite a deteção da presença de bactérias, leveduras e bolores (fungos filamentosos). O lado com meio de cultura de agar com o corante TTC (cloreto de trifetil tetrazólio) - que ajuda a diferenciar bactérias fermentadoras de lactose das não fermentadoras de lactose, uma vez que confere uma coloração vermelha às últimas (são exemplos *Salmonella* e *Pseudomonas aeruginosa*) - e meio TSA (*trypticase soy agar*) - um meio não seletivo rico em triptona (fonte de azoto) e peptona (fonte de aminoácidos, vitaminas e hidratos de carbono) resultantes da digestão enzimática da proteína caseína, fonte de proteínas e lípidos, que permite o desenvolvimento de diversas bactérias [37]. Antes da incubação este meio exibe uma cor amarela, sendo que as colónias bacterianas aeróbicas formadas após incubação são facilmente identificáveis através de pontos vermelhos, podendo verificar-se pontos brancos também estes indicativos de colónias bacterianas.

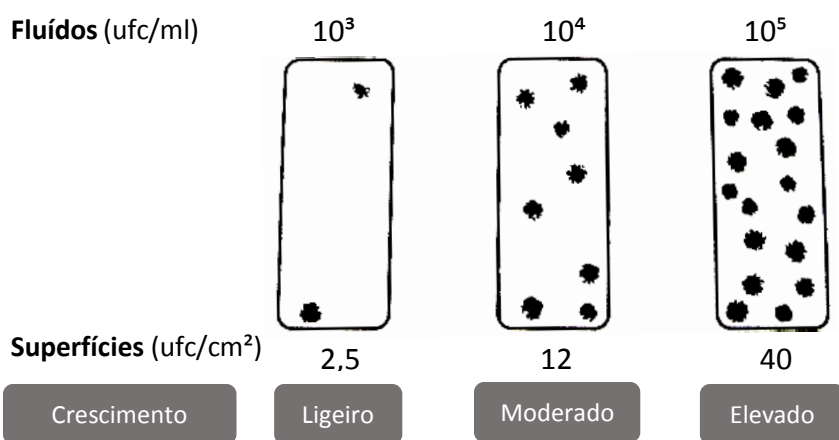
O lado do *dipslide* com meio de cultura de agar de malte permite a deteção colónias de



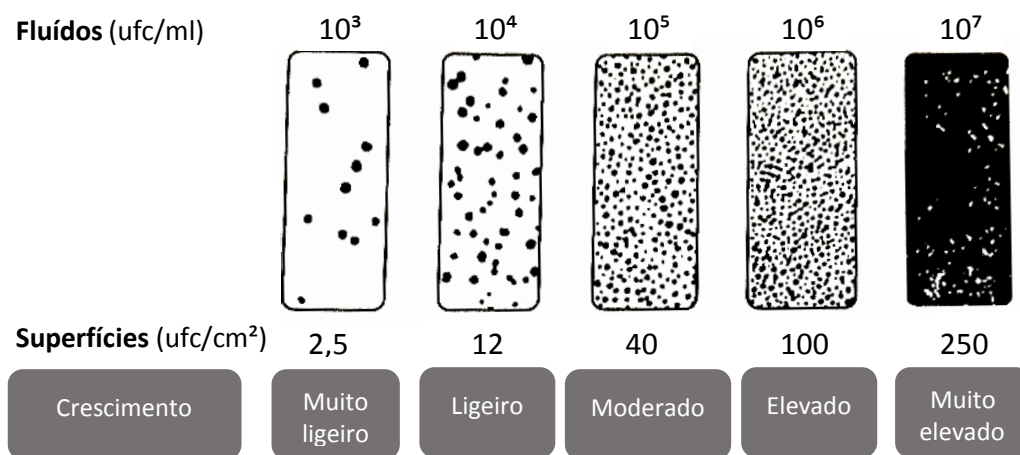
**Figura 15** - Preventol®Dipslides (Lanxess).

leveduras (de cor branca, bege ou vermelha) e fungos filamentosos, facilmente distinguíveis pelo sua aparência típica de bolores [38].

O kit permite efetuar uma estimativa de unidades formadoras de colónias por área de superfície (ufc/cm<sup>2</sup>), assim como por volume de líquido na qual o *dipslide* poderá também ser imergido (ufc/ml), após incubação do mesmo à temperatura indicada, durante um período de tempo variável (24-120 h), devidamente identificados na documentação disponibilizada com o kit, que contém também imagens para comparação de resultados, adaptadas em **Figura 16** e **Figura 17**.



**Figura 16** - Comparação resultados para colónias de fungos filamentosos.



**Figura 17** - Comparação de resultados para colónias de bactérias/leveduras.

No caso de produtos de higiene pessoal e detergentes de uso doméstico, o laboratório externo a que a Mistolin Company recorre baseia-se nas normas da Organização Internacional de Normalização aplicadas a cosméticos, para tal são usadas técnicas de análise para a pesquisa de estafilococos coagulase positiva (segundo a norma ISO 22718:2006), de forma a detetar a presença de estirpes patogénicas de *Staphylococcus*, nomeadamente *Staphylococcus aureus*; e contagem de fungos filamentosos (bolores) e leveduras (segundo a norma ISO 16212:2008), pelo método de espalhamento. Dada a natureza dos produtos referidos e o facto de entrarem em contacto com a pele do consumidor, é também feita a contagem de microrganismos mesófilos (ISO 21149:2006) e pesquisa de bactérias Gram-negativas seguindo um método de incorporação, de forma a descartar a presença de microrganismos prejudiciais que se desenvolvem à temperatura ambiente e poderão não ter sido corretamente eliminados pelo desinfetante utilizado nos equipamentos com que o produto entrou em contacto.

A utilização de *dipslides* é um método vantajoso para efetuar uma rápida avaliação microbiológica das superfícies do equipamento e identificar a necessidade de antecipar o procedimento de desinfecção, devido à sua portabilidade e facilidade de manuseamento. No entanto, para melhor identificar a causa pontual de uma contaminação nos equipamentos que entram em contacto com os produtos da Mistolin Company, o mais indicado seria recorrer ao mesmo laboratório externo para que se efetuem o mesmo tipo de análises que se fazem ao produto final, recolhendo amostras dos pontos críticos contaminação nos equipamentos identificados neste trabalho.

#### **4. Avaliação da eficácia da higienização dos equipamentos da Mistolin Company**

Sendo o objetivo deste trabalho avaliar a eficácia dos processos de desinfecção realizados nos equipamentos em contacto com os produtos fabricados na unidade fabril da Mistolin Company, depósitos, linhas de enchimento e reatores de formulação, assim como a tubagem responsável por fazer a ligação entre os equipamentos mencionados, efetuou-se a recolha de amostras das superfícies nos pontos críticos identificados na **Tabela 4** para avaliar os microrganismos presentes antes e depois do processo de desinfecção. Estas amostras foram

analisadas no A3-Análises, Águas e Alimentos, Lda. (laboratório de análises associado à Mistolin Company) onde foi feita: contagem de bactérias gram-negativas, contagem de fungos, contagem de estafilococos coagulase positiva e contagem de microrganismos aeróbios mesófilos das mesmas.

#### **4.1. Identificação de pontos críticos de contaminação**


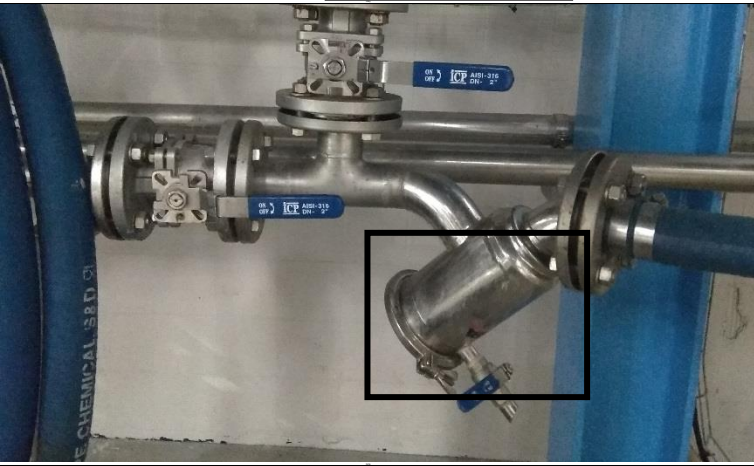
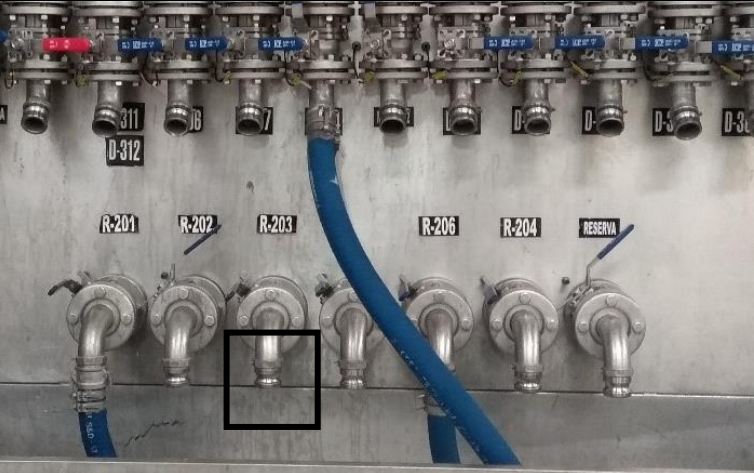
Após análise do funcionamento dos processos de higienização dos equipamentos envolvidos no processo de produção, procedeu-se à identificação de pontos críticos de contaminação indicados na **Tabela 4** para definir o local de recolha de amostras para examinar a eficiência dos procedimentos de desinfecção aplicados nos equipamentos envolvidos no processo produtivo da Mistolin Company.

Os pontos críticos de contaminação são as zonas dos equipamentos da unidade fabril onde se prevê que haja uma maior probabilidade de a higienização não ocorrer de forma eficiente. Trata-se geralmente de áreas pouco acessíveis nas quais se suspeita que possa ocorrer contaminação e acumulação de subprodutos da produção.


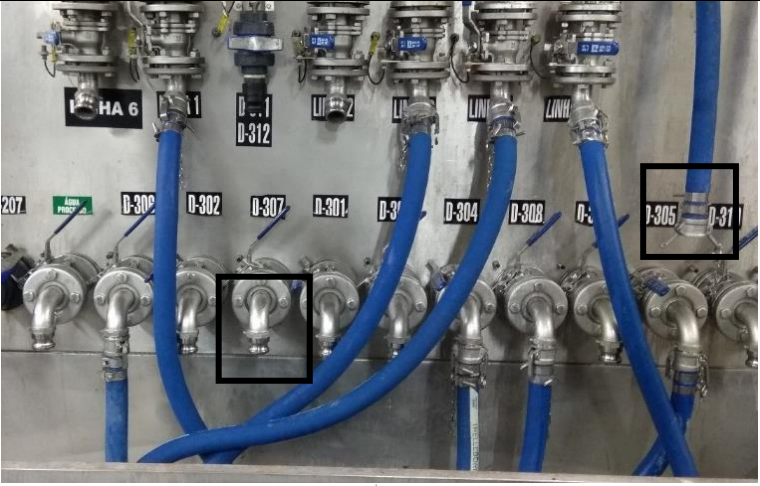

##### **4.1.1. Procedimento de amostragem**

A técnica de amostragem utilizada é uma adaptação da norma da Organização de Normalização Internacional (ISO) ISO18593:2018 [39], que descreve o método de recolha de amostras de superfícies, com recurso a zaragatoas, para detetar ou quantificar os microrganismos presentes nas mesmas. Este método consistiu em, depois de selecionar uma superfície com uma área de cerca de 100cm<sup>2</sup>, embeber a zaragatoa com o líquido de diluição, removendo o excesso contra as paredes do tubo, de seguida retirou-se a zaragatoa do tubo, tocando e esfregando a sua extremidade na superfície a analisar. A zaragatoa foi depois colocada de novo no tubo com o líquido de diluição e que por sua vez foi colocado numa térmica, com uma temperatura entre 1°C e 4°C, depois de devidamente identificado com uma etiqueta onde foram registados a hora e o local da amostra.

**Tabela 4** – Locais de amostragem dos pontos críticos de contaminação identificados nos equipamentos envolvidos no processo produtivo da Mistolin Company.

Ponto crítico de contaminação	Local de amostragem <sup>(2)</sup>
Topo do reator de formulação	
Filtro localizado na base do reator de formulação	
Válvula <i>Manifold 1</i>	



Ponto crítico de contaminação	Local de amostragem <sup>(2)</sup>
<p>Topo depósito de armazenamento/ depósito pulmão da linha de enchimento</p>	
<p>Válvula <i>manifold</i> 2/ mangueira</p>	
<p>Bicos da linha de enchimento</p>	

<sup>(2)</sup> todas as amostragens foram efetuadas na parte interior dos equipamentos analisados.

#### **4.1.2. Procedimento de cultura e contagem de microrganismos**

A técnica utilizada para efetuar a contagem de microrganismos é uma adaptação da norma ISO4833-1:2013 [40], onde está descrito o método específico para contagem de microrganismos cultiváveis a 30°C em amostras de zaragatoas de superfícies. A adaptação feita visou à adequação dos meios de cultura aos das normas ISO de cosmética descritas no tópico 2.4 Legislação relevante, ISO16212:2008, para contagem de fungos filamentosos e leveduras - meio Saboraud CAF Agar; ISO21149:2006 para contagem de microrganismos aeróbios - meio Eugon; ISO22718:2006 para contagem de estafilocos coagulase positiva - meio Rapid Staph. Para a contagem de bactérias Gram negativas utilizou-se o meio Macconkey Agar.

O procedimento de cultura iniciou-se com a agitação do tubo que continha a zaragatoa, seguindo-se a transferência de 1 mL do seu conteúdo(solução-mãe) e de diluições decimais sucessivas para placas de Petri. Depois transferiu-se 12 a 15 mL de cada um dos meios de cultura mencionados para placas diferentes, aguardou-se que este solidificasse e inverteram-se as placas, sendo então incubadas a  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $72 \pm 3\text{h}$ , ao fim das quais se efetuou a contagem do número de colónias presentes na zaragatoa.

#### **4.2. Resultados das análises microbiológicas**

Devido ao volume de produção e à natureza da aplicação dos detergentes de lavar a loiça produzidos na Mistolin Company, todos os equipamentos analisados neste trabalho estão envolvidos na produção destes produtos. Sendo estes os produtos aos quais é aplicada a legislação mencionada no tópico 2.4 Legislação relevante, referente ao controlo de fungos filamentosos e leveduras (ISO 16212:2008), microrganismos aeróbios (ISO21149:2006) e deteção de espécies de estafilocos coagulase positiva, como por exemplo *Staphylococcus aureus* (ISO22718:2006). Tendo em conta as características de atuação dos compostos ativos CQA do desinfetante usado já mencionadas, também foi realizado o controlo de bactérias Gram negativas.

Nos locais de amostragem onde foi possível verificar um decréscimo na quantidade de contaminantes efetuou-se a determinação da eficiência do processo de desinfecção, de acordo com a equação:

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{\text{UFC/amostra}_{\text{antes da desinfecção}} - \text{UFC/amostra}_{\text{depois da desinfecção}}}{\text{UFC/amostra}_{\text{antes da desinfecção}}} \times 100$$

Na **Tabela 5** encontram-se os resultados referentes às análises efetuadas no reator de formulação 206 e adicionalmente na mangueira utilizada para fazer a ligação entre o reator de

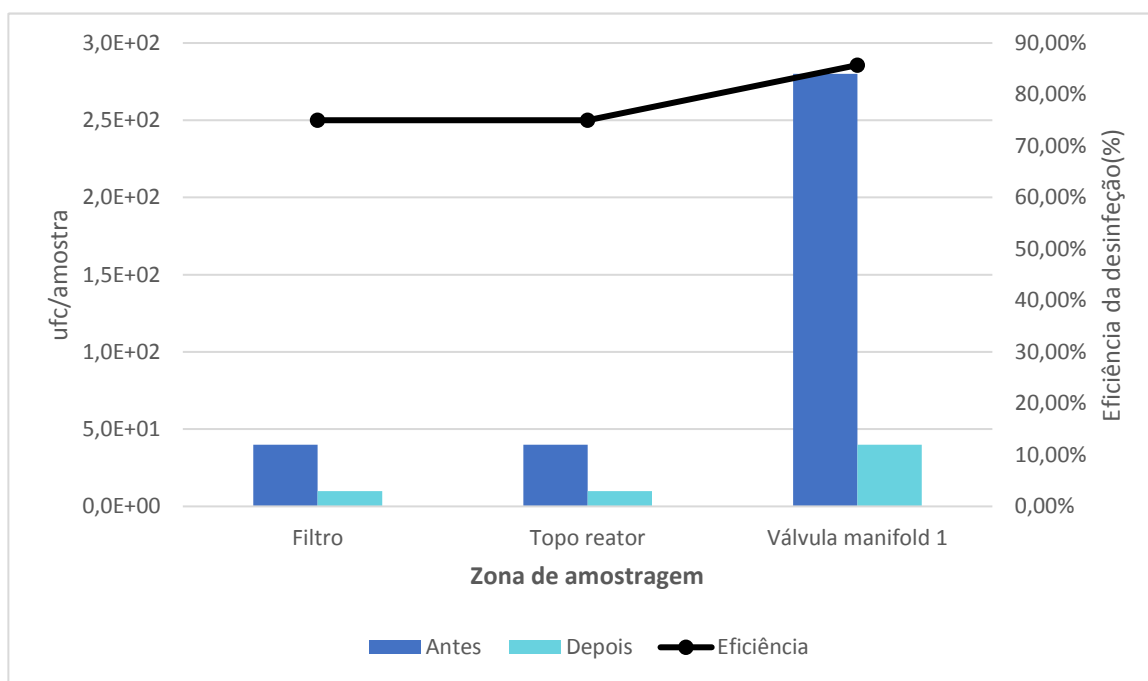
**Tabela 5** – Resultados obtidos para as superfícies do reator de formulação 206.

Ponto crítico de contaminação	Análise microbiológica	Antes da desinfecção (ufc/amostra)	Depois da desinfecção (ufc/amostra)
<b>Topo reator de formulação</b>	Contagem de Bactérias Gram-negativas	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de fungos	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de Estafilococos coagulase positiva	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos	4,0E+01	<1,0E+01
<b>Filtro</b>	Contagem de Bactérias Gram-negativas	4,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de fungos	4,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de Estafilococos coagulase positiva	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos	<1,0E+01	<1,0E+01
<b>Válvula manifold 1</b>	Contagem de Bactérias Gram-negativas	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de fungos	<1,0E+01	4,0E+01
	Contagem de Estafilococos coagulase positiva	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos	2,8E+02	4,0E+01
<b>Mangueira manifold 1</b>	Contagem de Bactérias Gram-negativas	<1,0E+01	-
	Contagem de fungos	<1,0E+01	-
	Contagem de Estafilococos coagulase positiva	<1,0E+01	-
	Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos	<1,0E+01	-

formulação e o depósito de armazenamento no *manifold* 1, de forma a determinar se era necessário implementar um procedimento de desinfecção para as mangueiras.

A amostra recolhida no topo do reator de formulação não apresentou valores significativos de unidades formadoras de colónias (ufc) para a maioria dos testes efetuados com a exceção dos resultados da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, uma vez que se obteve um valor significativo de ufc na amostra efetuada antes do procedimento de desinfecção, 4,0E+01 ufc/amostra, podendo observar-se um decréscimo do número destes organismos na amostra recolhida depois de se ter efetuado a desinfecção do reator (**Figura 18**).

Os resultados obtidos para a amostra do filtro do reator, revelaram a presença de bactérias Gram-negativas e fungos, verificando-se que o processo de desinfecção foi eficiente na eliminação destes microrganismos, uma vez que a amostra recolhida depois de se ter efetuado a desinfecção do reator não possuía um valor significativo destes organismos (<1,0E+01 ufc/zaragatoa). A amostra recolhida na válvula do *manifold* 1 apresentou os resultados menos concordantes uma vez que se obteve um valor significativo de ufc na análise para quantificação



**Figura 18** – Eficiência do processo de desinfecção e unidades formadoras de colónias (por zaragatoa) antes e após o processo de desinfecção do reator de formulação 206.

de fungos na amostra efetuada depois do procedimento de desinfecção, quando a amostra efetuada antes do equipamento ser desinfetado não apresentou valores significativos para estes microrganismos. Este resultado poderá dever-se ao facto de, ao contrário dos ensaios efetuados aos restantes equipamentos, a recolha das amostras efetuada após a desinfecção ter sido feita quase 72h depois deste processo ter ocorrido. Um outro fator que poderá contribuir para os resultados obtidos é o facto de o local de recolha da amostra na válvula estar numa extremidade exposta a fatores externos, como por exemplo o manuseamento por parte dos trabalhadores da unidade fabril. Destacam-se também os resultados da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos antes da desinfecção,  $2,8E+02$  ufc/amostra, por este valor ser bastante superior ao observado nas restantes amostras. No entanto na **Figura 18** pode observar-se um decréscimo do número destes organismos na amostra recolhida depois de se ter efetuado a desinfecção do reator, apresentando uma eficiência semelhante à verificada nos bicos da linha de enchimento (superior a 80%).

Os resultados obtidos para a amostra da mangueira poderão indicar que não deverá ser necessário implementar um procedimento de desinfecção para as mangueiras utilizadas nos *manifolds* para fazer a ligação entre equipamentos, uma vez que a quantidade de unidades formadoras de colónias na amostra não possuía um valor significativo apesar da mangueira apenas ter sido sujeita ao processo de limpeza. No entanto o facto de esta ter entrado em contacto com a válvula analisada poderá indicar que se poderá tratar de um acaso, pelo que se deveriam ter realizado réplicas desta análise.

Na **Tabela 6** encontram-se os resultados referentes às análises efetuadas no depósito de armazenamento 301.

Com a análise destes resultados pode deduzir-se que os resultados não são conclusivos uma vez que a quantidade de unidades formadoras de colónias (ufc) nas amostras não possuía um valor significativo antes deste equipamento ser desinfetado, pelo que não foi possível observar nenhuma alteração após o procedimento de desinfecção ou determinar a eficácia do processo de desinfecção neste equipamento.

**Tabela 6** – Resultados obtidos para as superfícies do depósito de armazenamento 301.

Ponto crítico de contaminação	Análise microbiológica	Antes da desinfecção (ufc/amostra)	Depois da desinfecção (ufc/amostra)
<b>Topo depósito de armazenamento</b>	Contagem de Bactérias Gram-negativas	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de fungos	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de Estafilococos coagulase positiva	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos	<1,0E+01	<1,0E+01
<b>Válvula manifold 2</b>	Contagem de Bactérias Gram-negativas	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de fungos	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de Estafilococos coagulase positiva	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos	<1,0E+01	<1,0E+01

Devido à baixa contaminação observada neste equipamento, poder-se-á optar pela utilização de menores concentrações de desinfetante com consequente redução de custos de operação e de volume de águas residuais contaminadas.

Na **Tabela 7** encontram-se os resultados referentes às análises efetuadas na linha de enchimento 5.

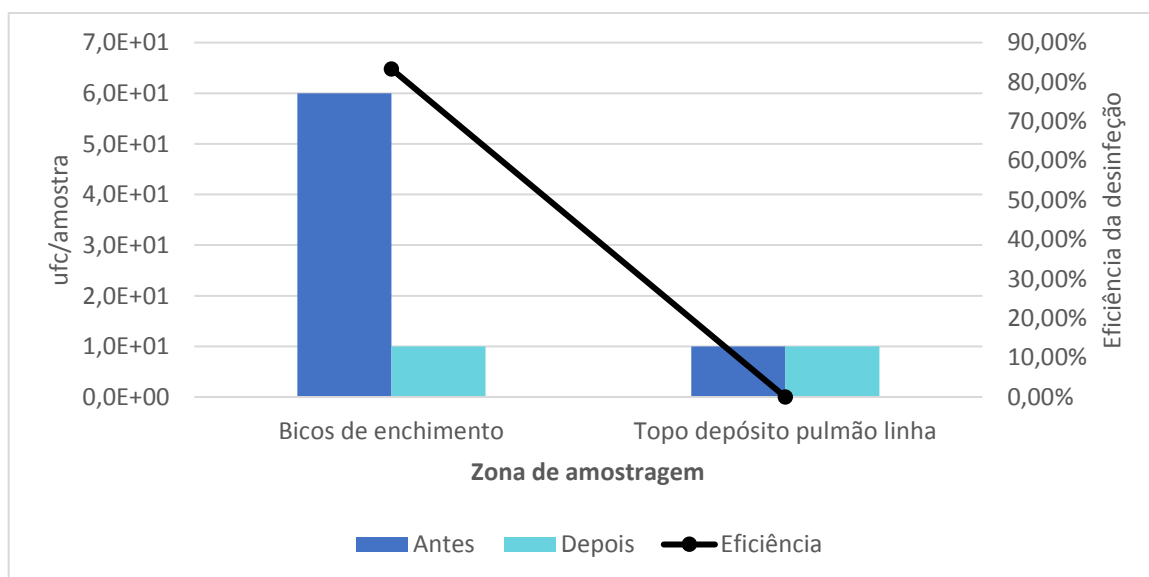
Analisando os resultados obtidos para as superfícies da linha de enchimento 5 pode deduzir-se que os resultados obtidos para a amostra retirada do depósito-pulmão da linha não são conclusivos uma vez que a quantidade de unidades formadoras de colónias (ufc) nas amostras não possuía um valor significativo antes deste equipamento ser desinfetado, pelo que não foi possível observar nenhuma alteração após o procedimento de desinfecção.

A amostra correspondente aos bicos de enchimento da linha apresentou resultados semelhantes com a exceção dos resultados da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, uma vez que se obteve um valor significativo de ufc na amostra efetuada antes do procedimento de desinfecção, 6,0E+01 ufc/amostra, podendo observar-se um decréscimo do número destes organismos após desinfecção da linha de enchimento apresentando uma

**Tabela 7** - Resultados obtidos para as superfícies da linha de enchimento 5.

Ponto crítico de contaminação	Análise microbiológica	Antes da desinfecção (ufc/amostra)	Depois da desinfecção (ufc/amostra)
<b>Bicos enchimento</b>	Contagem de Bactérias Gram-negativas	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de fungos	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de Estafilococos coagulase positiva	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos	6,0E+01	<1,0E+01
<b>Topo depósito-pulmão da linha</b>	Contagem de Bactérias Gram-negativas	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de fungos	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de Estafilococos coagulase positiva	<1,0E+01	<1,0E+01
	Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos	<1,0E+01	<1,0E+01

eficiência de desinfecção de 83,33% (**Figura 19**). Um fator que poderá contribuir para estes resultados é o facto de o local de recolha da amostra estar numa extremidade exposta a fatores externos, como por exemplo o manuseamento por parte dos trabalhadores da unidade fabril e o contacto com os vasilhames também estes expostos a fatores externos.



**Figura 19** - Eficiência e unidades formadoras de colónias (por zaragatoa) antes e após o processo de desinfecção da linha de enchimento 5.

## 5. Conclusão e Sugestões Futuras

O objetivo geral deste trabalho centrou-se na avaliação do processo de desinfecção dos equipamentos envolvidos no sistema de produção na unidade fabril da Mistolin Company, sendo estes os reatores de formulação, os depósitos e as linhas de enchimento. Para atingir este objetivo, foram recolhidas amostras de vários pontos das superfícies no interior destes equipamentos a fim de se averiguar a concentração de microrganismos presentes, antes e depois dos processos de desinfecção.

Os resultados obtidos nesta análise permitiram confirmar a adequabilidade dos procedimentos de desinfecção das linhas de enchimento e dos reatores de formulação para uma eliminação satisfatória dos microrganismos presentes nestes equipamentos e permitiu excluir um eventual aumento da concentração dos desinfetantes como forma de aumentar a eficiência do processo. Assim foi possível validar a concentração da solução desinfetante de DMC-80 utilizada nos procedimentos de desinfecção da empresa, uma vez que proporcionaram eficiências de remoção de microrganismos aeróbios mesófilos das superfícies na ordem dos 80%. No que concerne ao procedimento de desinfecção implementado para os depósitos de armazenamento da fábrica poder-se-á equacionar a utilização de menores concentrações de solução desinfetante (a serem validadas em estudos posteriores), uma vez que a amostra recolhida antes da desinfecção já não apresentava concentrações significativas de microrganismos. Desta forma poderá haver uma redução de custos de operação e de volume de águas residuais contaminadas associados ao processo de desinfecção destes equipamentos.

O significado dos resultados apresentados poderá ser limitado, uma vez que não foi possível ter acesso à maioria dos locais onde a solução desinfetante poderá não contactar com as superfícies de forma eficiente, com a exceção do filtro do reator de formulação. Seria vantajoso assim, obter amostras de outros pontos do sistema de produção de modo a se conseguir analisar por completo o percurso feito pelo produto produzido, nomeadamente na tubagem e válvulas situadas entre cada equipamento envolvido na produção. O mesmo não foi possível durante a realização deste trabalho, uma vez que as condutas não estão



preparadas para o efeito. Deste modo, não foi possível aferir sobre a possibilidade de contaminação depois do reinício do processo produtivo após o passo de desinfecção, devido a, por exemplo, transporte de microrganismos de biofilmes eventualmente existentes nos tubos de transporte do produto dos reatores de produção, para os depósitos e destes para as linhas de enchimento. Para que se possa ultrapassar o problema verificado ao nível da metodologia de recolha das amostras esta poderá, em estudos posteriores, recolher amostras do efluente resultante do enxaguamento dos equipamentos imediatamente antes de se iniciar o processo de desinfecção e depois deste, mas no momento imediatamente antes de se retomar o processo produtivo. Deste modo poderão obter-se amostras mais representativas das condições observadas durante a produção.

Admitiu-se então, a existência de outros focos de contaminação no processo global de desinfecção, nomeadamente ao nível da água utilizada no processo de produção. Como esta é analisada mensalmente no mesmo laboratório em que as análises microbianas foram realizadas, e durante o decurso do estágio a que este trabalho se refere não foram detetadas quantidades significativas de microrganismos cultiváveis a 36°C (0 ufc/ml), descartou-se a hipótese de a água de processo poder constituir um contaminante. No entanto, seria interessante estudar a nível laboratorial a evolução da atividade microbiológica verificada em água de processo estagnada, em tubagens iguais às utilizadas na fábrica, de forma a avaliar o crescimento de microrganismos nestas superfícies ao longo do tempo. Este estudo poderá facultar uma melhor compreensão das condições verificadas nos equipamentos envolvidos no processo produtivo quando estes não se encontram em funcionamento, uma vez que nesta condição se costumam encontrar apenas limpos e no seu interior apenas estará a água de processo remanescente do passo de enxaguamento. Poderá também permitir determinar o período máximo que um equipamento da fábrica poderá ficar parado, sem ter de se proceder à sua desinfecção antes de ser utilizado novamente.

O trabalho desenvolvido no estágio, para além de ter proporcionado à empresa um maior conhecimento numa área que ainda não tinha sido aprofundadamente estudada, proporcionou um momento de aprendizagem ao nível do funcionamento de uma unidade

industrial nas diversas áreas existentes na empresa, desde a produção, manutenção e controlo de qualidade.

## 6. Bibliografia

- [1] Mistolin Company, “Manual de Apresentação a Clientes. Ambiente & Sociedade.” Vagos, 2012.
- [2] R. Chang, *Chemistry*, 10th ed. New York: Mcgraw-Hill Companies, Inc., 2010.
- [3] W. D. Perkins, “Fourier transform infrared spectroscopy. Part III. Applications,” *J. Chem. Educ.*, vol. 64, no. 12, p. A296, 1987.
- [4] A. R. Hind, S. K. Bhargava, and A. McKinnon, “At the solid/liquid interface: FTIR/ATR — the tool of choice,” *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 93, no. 1–3, pp. 91–114, 2001.
- [5] B. Kronberg, K. Holmberg, and B. Lindman, *Surface Chemistry of Surfactants and Polymers.*, 1st ed. New York: John Wiley & Sons, Ltd, 2014.
- [6] A. L. Motyka, “An Introduction to Rheology with an Emphasis on Application to Dispersions,” *J. Chem. Educ.*, vol. 73, no. 4, p. 374, 1996.
- [7] N. Khatri, S. Tyagi, and D. Rawtani, “Recent strategies for the removal of iron from water: A review,” *J. Water Process Eng.*, vol. 19, pp. 291–304, 2017.
- [8] L. S. Brown and T. A. Holme, *Chemistry for Engineering Students*, 1st ed. Belmont: Thomson Learning, Inc, 2006.
- [9] D. Downing, “Disinfection of cannery water using chlorination,” in *A Complete Course in Canning and Related Processes*, 14th ed., S. Featherstone, Ed. Sawston: Elsevier Ltd., 2015, pp. 112–116.
- [10] D. B. Vance, “Iron-The environmental impact of a universal element,” *Natl. Environ. J.*, vol. 4, no. 3, pp. 24–25, 1994.
- [11] G. Wirtanen and S. Salo, “Disinfection in Food Processing – Efficacy Testing of Disinfectants,” *Rev. Environ. Sci. Bio/Technology*, vol. 2, no. 2–4, pp. 293–306, 2003.
- [12] G. McDonnell and A. D. Russell, “Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance,” *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 12, no. 1, pp. 147–179, 1999.

- [13] S. S. Block, Ed., “Definitions of terms,” in *Disinfection, Sterilization, and Preservation*, 5th ed., Philadelphia: Lea & Febiger, 1991, pp. 18–125.
- [14] C. Griffith, “Surface Sampling and the Detection of Contamination,” in *Handbook of Hygiene Control in the Food Industry*, 2nd ed., H. Lelieveld, J. Holah, and D. Gabrić, Eds. Dorchester: Woodhead Publishing, 2005, pp. 673–696.
- [15] C. A. Wallace and S. E. Mortimore, “Determine Critical Control Points,” in *Handbook of Hygiene Control in the Food Industry*, 2nd ed., H. Lelieveld, J. Holah, and D. Gabrić, Eds. Cambridge: Woodhead Publishing, 2005, pp. 32–35.
- [16] M. Walton, “Principles of Cleaning-in-Place (CIP),” in *Cleaning-in-Place: Dairy, Food and Beverage Operations*, 3rd ed., A. Y. Tamime, Ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2008, pp. 1–9.
- [17] R. Ryther, “Development of a Comprehensive Cleaning and Sanitizing Program for Food Production Facilities,” in *Food Safety Management: A Practical Guide for the Food Industry*, Y. Motarjemi and H. Lelieveld, Eds. Eagan: Academic Press, 2014, pp. 741–768.
- [18] K. Asteriadou and P. Fryer, “Assessment of Cleaning Efficiency,” in *Cleaning-in-Place: Dairy, Food and Beverage Operations*, 3rd ed., A. Y. Tamime, Ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2008, pp. 164–176.
- [19] V. Davy and Nestlé Waters, “Optimization of Cleaning-In-Place (CIP) processes in bottled water industry,” *Proceedings of the AquaFit4Use Mid-Term Conference*. Oviedo, 2010.
- [20] R. Kohli, “Cleanliness Validation and Verification,” in *Developments in Surface Contamination and Cleaning*, vol. 7, R. Kohli and K. L. Mittal, Eds. Oxford: Elsevier Inc., 2013, pp. 1–188.
- [21] R. Kohli and K. L. Mittal, “Cleaning Techniques,” in *Developments in Surface Contamination and Cleaning*, vol. 8, R. Kohli and K. L. Mittal, Eds. Oxford: Elsevier Inc., 2013, pp. 1–188.
- [22] ICMSF – International Commission on Microbiological Criteria for Foods, *El Sistema de*

*análisis de riesgos y puntos críticos: su aplicación a las industrias de alimentos.* Zaragoza: Editorial Acribia, 1991.

- [23] Associação para a Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica (AESBUC), *Manual de higienização indústria alimentar.* Porto: AESBUC, 2003.
- [24] P. Baptista, *Higienização de equipamentos e instalações na indústria agro-alimentar*, 1<sup>a</sup>. Guimarães: Forvisão - Consultoria em Formação Integrada, Lda., 2003.
- [25] K. Hegstad, S. Langsrud, B. T. Lunestad, A. A. Scheie, M. Sunde, and S. P. Yazdankhah, “Does the Wide Use of Quaternary Ammonium Compounds Enhance the Selection and Spread of Antimicrobial Resistance and Thus Threaten Our Health?,” *Microb. Drug Resist.*, vol. 16, no. 2, 2010.
- [26] Y. Motarjemi, “Hazard Analysis and Critical Control Point System (HACCP),” in *Food Safety Management: A practical guide for the food industry*, vol. 39, no. 5, Y. Motarjemi and H. Lelieveld, Eds. Nyon: Academic Press, 2008, pp. 845–850.
- [27] R. Ismail *et al.*, “Methods for recovering microorganisms from solid surfaces used in the food industry: A review of the literature,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 10, no. 11, pp. 6169–6183, 2013.
- [28] J. Hammond, “Microbiological techniques to confirm CIP effectiveness,” *Brewer*, vol. 82, pp. 332–338, 1996.
- [29] International Organization for Standardization, “ISO 16212 Cosmetics – Microbiology – Enumeration of yeast and mould.” ISO, Geneva, 2008.
- [30] International Organization for Standardization, “ISO 22718 Cosmetics – Microbiology – Detection of *Staphylococcus aureus*.” ISO, Geneva, 2006.
- [31] International Organization for Standardization, “ISO 21149 Cosmetics - Microbiology - Enumeration and detection of aerobic mesophilic bacteria.” ISO, Geneva, 2006.
- [32] International Organization for Standardization, “ISO 6222 Water quality — Enumeration

of culturable micro-organisms — Colony Count by Inoculation in a Nutrient Agar Culture Medium.” ISO, Geneva, 1999.

- [33] R. Bragg, A. Jansen, M. Coetzee, W. van der Westhuizen, and C. Boucher, “Bacterial Resistance to Quaternary Ammonium Compounds (QAC) Disinfectants,” in *Advances in experimental medicine and biology*, vol. 808, Bloemfontein: Springer, 2014, pp. 1–13.
- [34] Mistolin Company, “Desinfetante DMC-80 - Ficha técnica do produto.” Vagos, 2013.
- [35] R. Packman, B. Knudsen, and I. Hansen, “Perspectives in Tank Cleaning: Hygiene Requirements, Device Selection, Risk Evaluation and Management Responsibility,” in *Cleaning-in-Place: Dairy, Food and Beverage Operations*, 3rd ed., A. Y. Tamime, Ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2008, pp. 108–145.
- [36] Mistolin Company, “Tira gorduras HTG-30 - Ficha técnica do produto.” Vagos, 2013.
- [37] R. Atlas, *Handbook of Microbiological Media*, 4th ed. Louisville: CRC Press, 2010.
- [38] Lanxess, “Preventol® Dipslides manual.” Alemanha, pp. 1–10.
- [39] International Organization for Standardization, “ISO18593 – Microbiology of the food chain — Horizontal methods for surface sampling.” ISO, Geneva, 2018.
- [40] International Organization for Standardization, “ISO4833-1 – Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganisms.” ISO, Geneva, 2013.